

**INHIBICIÓN DE LA ALTERACIÓN LIPÍDICA  
DURANTE LA CONSERVACIÓN DE SALMÓNIDOS  
COMERCIALES MEDIANTE LA APLICACIÓN DE  
DIFERENTES SISTEMAS  
PRESERVANTES**



**JAIME ORTIZ VIEDMA**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y  
BROMATOLOGÍA PROGRAMA DE DOCTORAMIENTO  
ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD  
ALIMENTARIA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA  
2015**





**TESIS DE DOCTORAMIENTO**

**INHIBICIÓN DE LA ALTERACIÓN  
LIPÍDICA DURANTE LA CONSERVACIÓN  
DE SALMÓNIDOS COMERCIALES  
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE  
DIFERENTES SISTEMAS  
PRESERVANTES**

*Fdo.*

Jaime Ortiz Viedma

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y  
BROMATOLOGÍA PROGRAMA DE DOCTORAMIENTO  
ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y  
SEGURIDAD ALIMENTARIA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**SANTIAGO DE COMPOSTELA**

**2015**







## TESIS DE DOCTORAMIENTO

SANTIAGO P. AUBOURG MARTÍNEZ, Profesor de Investigación del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo (CSIC) y JOSÉ MIGUEL AGUILERA RADIC, Profesor Titular de Ingeniería Química y Bioprocesos de la Universidad Católica de Chile como **Directores** y JORGE BARROS VELÁZQUEZ, Catedrático de la Universidad de Santiago como **Tutor**,

De la tesis de doctoramiento, titulada **“INHIBICIÓN DE LA ALTERACIÓN LIPÍDICA DURANTE LA CONSERVACIÓN DE SALMÓNIDOS COMERCIALES MEDIANTE LA APLICACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS PRESERVANTES”**, realizada por Don JAIME ORTIZ VIEDMA alumno del Programa de Doctoramiento ALIMENTOS; “VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA”

Santiago de Compostela, 30 de Octubre de 2015

*Autorizan la presentación de la tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctoramiento, y que como Directores de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 30/1992.*

Santiago de Compostela 30 de octubre de 2015.

FDO. SANTIAGO AUBOURG MARTÍNEZ (CO-DIRECTOR)

FDO. JOSÉ MIGUEL AGUILERA RADIC (CO-DIRECTOR)

FDO. JORGE BARROS VELÁZQUEZ (TUTOR)





## TESIS DE DOCTORAMIENTO

SANTIAGO P. AUBOURG MARTÍNEZ, Profesor de Investigación del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo (CSIC) y JOSÉ MIGUEL AGUILERA RADIC, Profesor Titular de Ingeniería Química y Bioprocesos de la Universidad Católica de Chile como **Directores**, y JORGE BARROS VELÁZQUEZ, Catedrático de la Universidad de Santiago como **Tutor**,

De la tesis de doctoramiento, titulada **“INHIBICIÓN DE LA ALTERACIÓN LIPÍDICA DURANTE LA CONSERVACIÓN DE SALMÓNIDOS COMERCIALES MEDIANTE LA APLICACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS PRESERVANTES”**, realizada por Don JAIME ORTIZ VIEDMA alumno del Programa de Doctoramiento ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA Santiago de Compostela, 30 de octubre de 2015.

Por la presente **DECLARAMOS**:

*Que la tesis presentada por Don Jaime Ortiz Viedma, es idónea para ser presentada, de acuerdo con el artículo 41 del Reglamento de Estudios de Doctoramiento, por la modalidad de compendio de ARTÍCULOS, en los que el doctorando tuvo participación en el peso de la investigación y su contribución fue decisiva para llevar a cabo este trabajo.*

*Y que está en conocimiento de los coautores, tanto doctores como no doctores, participantes en los artículos, que ninguno de los trabajos reunidos en esta tesis serán presentados por ninguno de ellos en otra tesis de Doctoramiento, lo que firmamos bajo nuestra responsabilidad.*

Santiago de Compostela 30 de octubre de 2015.

FDO. SANTIAGO AUBOURG MARTÍNEZ (CO-DIRECTOR)

FDO. JOSÉ MIGUEL AGUILERA RADIC (CO-DIRECTOR)

FDO. JORGE BARROS VELÁZQUEZ (TUTOR)



# Inhibición de la alteración lipídica durante la conservación de salmónidos comerciales mediante la aplicación de diferentes sistemas preservantes

---

## RESUMEN

---

El presente proyecto de tesis comprende el estudio en profundidad de la mejora de la calidad de las principales especies salmónidas comerciales cultivadas tanto en Galicia como en la zona sur de Chile. El objetivo común ha consistido en aplicar diferentes estrategias de conservación a nivel de las distintas etapas de la cadena productiva de salmónidos al objeto de inhibir el desarrollo de la alteración de la fracción grasa (oxidación e hidrólisis). La mejora de la calidad y el incremento de la vida útil se abordaron mediante distintas técnicas de aplicación de compuestos preservantes de origen natural a las especies de salmónidos elegidas para su conservación como productos refrigerados, congelados, enlatados y secados. Para verificar el efecto inhibitorio de la alteración de las distintas estrategias ensayadas, se realizaron análisis bioquímicos, físicos y sensoriales de las muestras tratadas en el laboratorio.

---

**PALABRAS CLAVES** *Salmón, preservación, fracción grasa, oxidación, vida útil*

**Inhibition of lipid damage during storage of commercial salmon by applying different preservative systems**

---

## ABSTRACT

---

This thesis project comprises an in-depth study of the improvement of the quality of the main commercial salmonid species cultivated both in Galicia and in the south of Chile. The common goal has been to apply different conservation strategies at the level of the different stages of the production chain of salmonids in order to inhibit the lipid damage (i.e., oxidation and hydrolysis) development. Quality enhancement and shelf life increase were addressed by the employment of different strategies including naturally occurring preservative compounds to salmonid species commercialised as chilled, frozen, canned and dried products. In order to verify the inhibitory effect of the different strategies tested, biochemical, physical and sensory analyses of the samples were performed.

---

**KEYWORDS** *Salmon, preservation, lipid fraction, oxidation, shell life time.*



# AGRADECIMIENTOS

*Quiero agradecer a todos y cada uno de los que me han acompañado en la realización de esta meta. Especialmente exponer que este trabajo no hubiese sido posible sin el apoyo incondicional de mis directores de tesis, Santiago P. Aubourg, Jorge Barros y José Miguel Aguilera. Para cada uno de ellos un agradecimiento especial por haberme dado la oportunidad de compartir sus conocimientos y de colaboración conjunta en proyectos que han permitido llevar a cabo relevantes investigaciones en la ciencia y tecnología de productos marinos.*

*Destacar a los profesionales Juan Pablo Vivanco por su apoyo y Amistad. A mis compañeros de labores en especial a los profesores Julia Vinagre, María Angélica Larraín, Vilma Quitral, y Alicia Rodríguez por compartir en algún momento este camino.*

*Especial mención a los investigadores y personal del IIM de Vigo (CSIC) Dr. José Manuel Gallardo, Marcos Trigo, Vanesa Losada por haberlos conocidos, compartidos su conocimiento en el laboratorio y asistencia técnica. Además, agradecer a todos los profesores del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia, por otorgarme la oportunidad de realizar el doctorado de la Universidad de Santiago de Compostela.*

*Este trabajo de investigación ha sido realizado gracias a la financiación concedida por Programa Bilateral Universidad de Chile (Chile)-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España). Proyecto 2003CL 0013; Proyecto 2006CL 0034, y soportado por la Secretaría Xeral I+D (Xunta de PGIDIT05TAL00701CT): Universidad de Chile – CSIC España. Proyecto colaborativo de investigación. CSIC Nº22/05-06. Universidad de Chile– Vicerrectoría de Investigación. Concurso de Proyectos Multidisciplinarios de Investigación en temas de Interés Nacional. MULT 05/13-2. DI-2005. 2006-2007. Proyecto Corfo11CEII-9568 y Proyecto Fondecyt 1120312.*







*A mis tesoros; Leslie, Yael y Vicente,*

*A mi padre y hermanos,*

*Y a ese ángel que me cuidó*

*y amó toda la vida...*



---

## ABREVIATURAS

---

a\*: Coordenada de color CIE L\*a\*b\* (rojo-verde).  
AA: Ácido ascórbico  
AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados  
AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados  
AGS: Ácidos grasos saturados  
ANOVA: Análisis de varianza  
AX: Astaxantina  
b\*: Coordenada de color CIE L\*a\*b\* (amarillo-azul).  
CD: Dienes Conjugados  
CTR: Control (agua destilada)  
CYO: Extractos acuosos de cochayuyo (fronda de *D. antartica*),  
D<sub>eff</sub>: Coeficiente de difusividad efectiva de humedad  
DHA: Ácidos docosahexaenoico  
EPA: Ácido eicosapentaenoico  
FI: Hielo líquido  
ISA: Anemia Infecciosa  
L\*: Coordenada de color CIE L\*a\*b\* (Luminosidad).  
MDA: Malondialdehído  
N-BVT: Nitrógeno básico volátil total  
NQC: Corte noruego estandarizado de calidad  
OFI: Hielo líquido con ozono  
pAV: Valor de Anisidina  
PI: Índice de Polienos  
PL: Fosfolípidos  
QDA: Análisis descriptivo de calidad  
RLC: Extracto acuoso de Luche rojo (*P. columbina*)  
SLC: Extracto acuoso de lechuga de mar (*U. lactuca*),  
TBA: Ácido tiobarbitúrico  
TOH: Tocoferoles  
ULT: Extracto acuoso de Ulte (parte basal de *D. antartica*)  
UV: Ultravioleta  
α-TOH: alfa-Tocoferol  
EAG: Equivalentes a ácido gálico



1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 PRODUCCIÓN DE LOS RECURSOS SALMONÍDEOS.....	1
1.1.1 Producción de trucha arco iris.....	1
1.1.2 Producción de salmón coho.....	2
1.1.3 Producción de salmón del Atlántico.....	2
1.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	3
1.3 ALTERACIONES DEL PESCADO.....	5
1.3.1 Alteración enzimática endógena.....	6
1.3.2 Alteración microbiana.....	8
1.3.3 Alteración por oxidación no enzimática.....	9
1.3.4 Mecanismo de pardeamiento no enzimática.....	10
1.3.5 Mecanismo de pardeamiento enzimático.....	11
1.4 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE PESCADO MEDIANTE TRATAMIENTO EN FRÍO.....	12
1.4.1 Conservación de pescado mediante refrigeración y congelación.....	12
1.4.2 Refrigeración tradicional en hielo en escamas.....	13
1.4.3 Nuevas estrategias para la refrigeración de especies marinas.....	14
1.4.4 Hielo líquido.....	14
1.4.5 Combinación de hielo líquido con ozono.....	16
1.4.6 Mejora de la conservación de salmón congelado mediante el desarrollo de dietas de cultivo formuladas con extractos antioxidantes.....	17
1.4.6.1 Dietas de cultivo tradicionales.....	17
1.4.6.2 Efecto de las dietas en la calidad nutricional de los peses.....	17
1.4.6.3 Desarrollo de dietas de cultivo con extractos antioxidantes naturales.....	18
1.4.6.4 Utilización de tocoferoles en dietas para peces.....	19
1.4.6.5 Utilización de extracto de romero.....	20

1.4.6.6 Interacción entre polifenoles de la dieta y antioxidantes endógenos.....	21
1.5 EXTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN POR APLICACIÓN DE ALTAS TEMPERATURAS.....	21
1.5.1 Enlatado convencional de pescado.....	21
1.5.1.1 Extractos de algas aplicables como líquido de cobertura en conservas.....	22
1.5.2 Conservación de pescado por secado.....	23
1.6 BIBLIOGRAFÍA.....	26
2 PUNTO DE PARTIDA, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	31
2.1 Punto de partida de la investigación realizada.....	31
2.2 Objetivos perseguidos.....	32
2.3 Plan de trabajo.....	33
2.3.1 Parte I. Aplicación de hielo líquido incluyendo ozono.....	33
2.3.2 Parte II. Conservación de salmón coho congelado	
2.3.2.1 mediante el desarrollo de formulaciones de dietas de cultivo adicionadas con extractos antioxidantes naturales alternativos al uso de antioxidantes sintéticos.....	33
2.3.3 Parte III. Conservación de salmón Atlántico a altas temperaturas: Enlatado con aplicación de extractos naturales y optimización de secado convencional.....	34
2.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO.....	35
2.4.1 Trucha arco iris.....	36
2.4.2 Salmón coho.....	36
2.4.3 Salmón del Atlántico.....	37
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.1 Métodos de conservación aplicados.....	39
3.1.1 Aplicación de hielo líquido incluyendo ozono como método de conservación.....	39

3.1.2	Conservación de salmón coho congelado mediante el desarrollo de formulaciones de dietas con extractos antioxidantes.....	39
3.1.3	Enlatado de salmón con aplicación de extracto de algas como medio de empaque.....	40
3.1.4	Secado como medio de preservación del valor nutricional de salmón Atlántico ( <i>S. salar</i> ).....	41
3.2	<b>Materia prima, aplicación del método de conservación y toma de muestras....</b>	41
3.2.1	Capítulo 1. Aplicación de hielo líquido incluyendo ozono como método de preservación de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	42
3.2.2	Capítulo 2. Inhibición de la rancidez de salmón coho congelado cultivados con dietas adicionadas de extracto de romero y alfa-tocoferol.....	42
3.2.3	Capítulo 3. Retención del valor nutricional de salmón coho congelado mediante adición de extractos de romero y tocoferoles en la dieta de cultivo.....	43
3.2.4	Capítulo 4. Inhibición de la rancidez en enlatados de carne de salmón Atlántico con líquido de cobertura en base a extractos de algas.....	44
3.2.5	Capítulo 5. Preservación del valor nutricional de salmón Atlántico ( <i>salmo salar</i> ) mediante optimización del secado convencional.....	45
3.3	<b>Tipos de análisis de valoración de la calidad.....</b>	46
3.3.1	Análisis químicos.....	46
3.3.1.1	Preparación de extractos.....	46
3.3.1.2	Medición del pH.....	47
3.3.1.3	Cuantificación de constituyentes.....	47
3.3.1.4	Estudio de la alteración lipídica.....	49
3.3.1.5	Estudio de la alteración de la fracción de nitrógeno no proteico.....	52
3.3.2	Análisis sensorial.....	53

3.3.3	Análisis estadístico.....	55
3.4	Bibliografía.....	56
4	Resultados y Discusión.....	59
4.1	Parte 1. Aplicación de hielo líquido incluyendo ozono.....	61
4.1.1	Anexo 1 .....	63
4.1.2	Capítulo 1. Aplicación de hielo líquido incluyendo ozono como método de preservación de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus m.</i> ).....	75
4.1.2.1	Introducción.....	75
4.1.2.2	Resultados y Discusión.....	75
4.1.2.2.1	Análisis químicos.....	75
4.2	Parte 2. Conservación de salmón coho congelado mediante el desarrollo de formulaciones de dietas de cultivo adicionadas con extractos antioxidantes naturales alternativos al uso de antioxidantes sintéticos.....	81
4.2.1	Anexo 2.....	83
4.2.2	Capítulo 2. Inhibición de la rancidez de salmón coho congelado cultivados con dietas adicionadas de extracto de romero y alfa tocoferol.....	91
4.2.2.1	Introducción.....	91
4.2.2.2	Resultados y discusión.....	91
4.2.2.3	Evaluación sensorial del sabor rancio.....	95
4.2.2.4	Conclusiones.....	96
4.2.3	Anexo 3 .....	97
4.2.4	Capítulo 3. Mantención del valor nutricional de salmón coho congelado mediante adición de extracto de romero y tocoferoles en la dieta de cultivo.....	109
4.2.4.1	Introducción.....	109
4.2.4.2	Resultados y Discusión.....	109
4.2.4.2.1	Análisis químicos.....	109
4.2.4.2.2	Antioxidantes sintéticos...	109



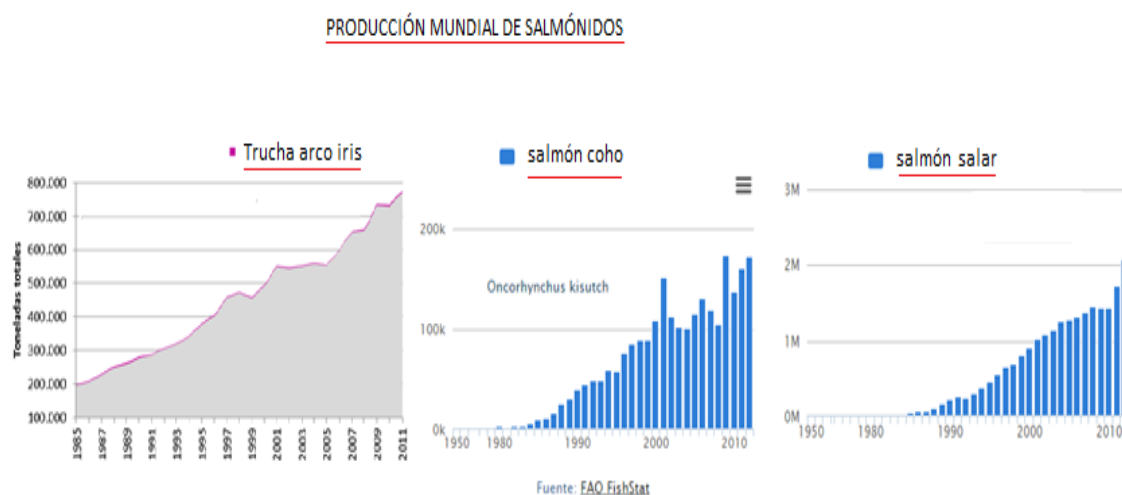
4.2.4.2.3	Antioxidantes naturales.....	110
4.2.4.2.4	Contenido de astaxantina y cambios de color.....	111
4.2.4.2.5	Análisis de ácidos grasos.....	112
4.2.4.2.6	Conclusiones.....	113
4.3	<b>Parte 3. Mejora de la calidad del salmón Atlántico mediante tratamientos a altas temperaturas: Enlatado con aplicación de extractos naturales y optimización de secado convencional.....</b>	115
4.3.1	Anexo 4.....	117
4.3.2	Capítulo 4. Inhibición de la Rancidez en salmón Atlántico enlatado mediante inclusión de extractos de algas como líquido de cobertura.....	129
4.3.2.1	Introducción.....	129
4.3.2.2	Resultados y conclusión.....	129
4.3.2.2.1	Análisis químicos.....	130
4.3.2.2.2	Oxidación lipídica.....	130
4.3.2.2.3	Antioxidantes endógenos.....	131
4.3.2.2.4	Bases volátiles totales.....	133
4.3.2.2.5	Evaluación sensorial.....	134
4.3.2.2.6	Conclusiones.....	134
4.3.3	Anexo 5.....	137
4.3.4	Capítulo 5. Preservación del valor nutricional de salmón Atlántico (s. salar) mediante optimización del secado convencional.....	147
4.3.4.1	Introducción.....	147
4.3.4.2	Resultados y conclusión.....	147
4.3.4.2.1	Análisis químicos.....	147
4.3.4.2.1.1	Oxidación lipídica.....	147

4.3.4.2.1.2 Antioxidantes endógenos....	148
4.3.4.2.1.3 Color.....	149
4.3.4.2.1.4 Firmeza.....	150
4.3.4.2.1.5 Optimización de secado.....	150
4.3.4.2.1.6 Conclusiones.	151
4.4 Bibliografía .....	152
5. Conclusiones.....	157



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 PRODUCCIÓN DE LOS RECURSOS SALMÓNIDOS



**Figura 1. Producción mundial de los principales salmónidos**

### 1.1.1 Producción de trucha arco iris

De acuerdo con el último Informe 2013 de Desempeño Económico en el Sector de la Acuicultura de la Comisión Europea, de las tres especies de trucha que se cultivan en el mundo (trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*; trucha común, *Salmo trutta*, y la trucha de arroyo *Salvelinus fontinalis*), la primera es la de mayor interés para consumo humano con 770.000 t métricas producidas en 2011 y EUR\$2.760 millones en valor (US\$3.794). El informe detalló que “Chile fue el principal país productor de trucha arcoíris a nivel mundial, concentrando el 29% del volumen y 47% del valor; en la Unión Europea (UE) la producción alcanzó las 179.000 t métricas y EUR\$507 millones en valor (US\$697 millones) durante 2011”. En tanto, la UE produjo el 23% en volumen y el 48% en valor de toda la trucha arcoíris. El principal productor fue Italia con 38.000 t métricas, seguido de Francia y Dinamarca con 33.000 toneladas métricas cada uno. En términos de volúmenes de producción, la cantidad de trucha común cultivada está muy lejos de los totales alcanzados por la trucha arco iris, especie que tiene una mejor tasa de crecimiento y una

mejor respuesta al cultivo (Volkan y col., 2011; <http://cetareports.com>; Tacon y col. 2008). La trucha común se cultiva exclusivamente en países europeos, principalmente en Francia, Italia, Rumania, Alemania y Austria.

### 1.1.2 Producción de salmón coho

La producción de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) ha decrecido a favor de la trucha arco-iris y del salmón del Atlántico. A pesar de ello, Chile permanece como el principal productor, con cerca del 89 % de la producción mundial que alcanzó las 148 000 toneladas en 2013. El principal mercado para el salmón plateado es Japón, país en el que el salmón plateado chileno aporta más de la mitad de las importaciones de salmón congelado. Durante los últimos 20 años Chile se ha consolidado como un productor de salmón a nivel mundial, al concentrar un tercio de la producción global, antecedido por Noruega y seguido por Reino Unido y Canadá.

**Tabla 1. Evolución de Producción por especie en Chile 2005-2013.**

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Salar	385.779	376.476	331.042	388.847	203.067	122.744	264.354	398.316	490.300
Salmón coho	102.494	118.221	105.477	92.317	133.308	114.338	159.585	159.745	148.100
Trucha arcoiris	122.962	150.608	162.406	149.411	149.741	215.367	224.569	262.674	153.800
Salmón Rey	2.904	1.958	1.910	72	596				
<b>Total (TONS)</b>	<b>614.139</b>	<b>647.263</b>	<b>600.835</b>	<b>630.647</b>	<b>486.712</b>	<b>452.449</b>	<b>648.508</b>	<b>820.735</b>	<b>792.200</b>

El dinamismo del sector y la asociatividad de la industria han permitido que la salmonicultura sea uno de los principales motores del constante y exitoso crecimiento exportador de Chile en los últimos 20 años. En el 2012, el salmón representó el 3,7% el total de las exportaciones nacionales después del cobre, el 75% del total exportado por las regiones sur australes del país, y más de un 20% de los envíos totales de alimentos a nivel país, generando 60 mil empleos directos e indirectos. La producción mundial actual de salmón del Atlántico cultivado excede a 1 000 000 toneladas (Tabla 1).

### 1.1.3 Producción de salmón del Atlántico

El salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cultivado constituye más de un 90 por ciento del mercado de salmón cultivado y más de un 50 por ciento del mercado global total de

salmón (Tabla 1). Por otro lado, el cultivo de salmón constituyó una de las principales actividades acuicultoras en Chile, y era considerada uno de los pilares de la economía del país. Durante el año 1994, las exportaciones de productos derivados del salmón alcanzaban US\$ 348,7 millones. Trece años después la cifra fue siete veces mayor y alcanzó a US\$ 2.206,5 millones, aunque en la actualidad, el sector de la salmonicultura enfrenta una crisis sanitaria y económica producto de los efectos de la anemia infecciosa del salmón (virus ISA). Producto de esto es que se destacan diversas medidas y cambios estructurales en el modelo productivo, entre ellas se destaca la obligatoriedad de descansos en los centros de cultivos, implementación de sistema all in all out, tiempos máximos de siembra, prohibición de movimiento de peces entre centros marinos y tratamiento de riles de plantas de proceso para eliminar virus y bacterias en un 100 % de las instalaciones. Con todo esto se espera que la industria del salmón logre volver a los niveles acostumbrados de producción en los próximos años, siendo estable y llegando a las altas exportaciones pasadas en el año 2015 (Salmonchile, 2015).

## 1.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

El salmón y en general el pescado constituyen una fuente importante de nutrientes y contribuyen a una dieta equilibrada y saludable. De este modo, presentan un contenido calórico bajo, son buenas fuentes de proteínas de alto valor biológico, aportan vitaminas tanto hidrosolubles como liposolubles así como algunos minerales. Además, muchas especies son ricas en ácidos grasos poliinsaturados omega-3, cuyo beneficio para la salud cada vez es más patente (Valenzuela, 2005).

**Tabla 2. Atributos nutricionales de distintas especies de salmonídeos y otros pescados (en 100 g de parte comestible).**

	KCal	Proteínas (g)	Grasa (g)	Sodio (mg)	Calcio (mg)	Hierro (mg)
<b>Atún</b>	170	24	6	40	30	1
<b>Bacalao</b>	80	17	0,4	60	20	0,5
<b>Lenguado</b>	82	18	0,7	80	30	1
<b>Merluza</b>	80	18	0,7	80	25	1
<b>Mero</b>	84	18	0,8	-	25	1,5
<b>Salmón</b>	180	22	10	-	60	0,8
<b>Sardina</b>	190	20	13	100	80	2,5
<b>Trucha</b>	110	18,5	3	40	15	1

El valor nutritivo va a depender de diferentes variables como la especie, la edad, el medio en el que vive, la alimentación o incluso la época de captura. El contenido proteico varía entre el 15 al 24% en función del tipo de pescado (Tabla 2). Las proteínas son de alto valor biológico, al contener aminoácidos esenciales para la vida, particularmente metionina, cisteína, treonina, lisina (imprescindible para el crecimiento de los niños) y triptófano (imprescindible para la formación de la sangre). El contenido de grasa (Valenzuela, 2005) varía entre un 0,1% y un 15%, y en función de la cantidad y calidad de grasa (Tabla 2 y 3) los pescados se pueden clasificar según el contenido de grasa (Tabla 2) y por su composición de ácidos grasos (Tabla 3).

**Tabla 3. Porcentaje de ácidos grasos del total de la grasa de salmón y algunas especies de pescado.**

	Ác. Palmítico	Ác. Esteárico	Ác. Palmitoleico	Ác. Oleico	Ác. Linoleico (ω-6)	Ác. Araquidónico (ω-6)	EPA (ω-3)	DHA (ω-3)	Total (ω-3)
Bacalao	22,1	4,8	2,1	9,5	1,2	1,5	16,3	36,1	53,1
Caballa	17,5	5,8	6,0	7,8	1,9	6,9	11,2	22,8	41,2
Salmón	13,0	3,0	5,2	14,0	2,0	2,8	11,0	20,0	39,9
Sardina	14,5	4,9	7,0	15,4	1,4	0,9	11,3	25,8	43,4
Lenguado	16,5	3,6	15,3	12,2	1,4	4,9	16,4	7,6	35,7
Trucha	11,4	7,3	8,2	17,4	12,3	1,4	5,1	16,8	30,1
Atún	9,5	7,9	7,5	17,5	1,8	4,1	7,5	26,4	37,6
Merluza	9,1	7,9	3,3	15,4	1,9	3,6	13,2	23,9	44,6

**Tabla 4. Contenido medio de vitaminas en pescado magro y graso.**

	Pescados magros	Pescados grasos
Vitamina A	50-100 UI	4000-6000 UI <sup>1</sup>
Vitamina D	10-20 UI	8000-12000 UI <sup>2</sup>
Vitamina B1	0,1-0,4 mg	0,3-0,4 mg
Vitamina B2	0,2-0,4 mg	0,3-0,6 mg
Nicotinamida	6-12 mg	4-8 mg

<sup>1</sup> 1 UI= 0,3 mg

<sup>2</sup> 1 UI = 0,025 mg

El salmón contiene cantidades variables de vitaminas hidrosolubles, fundamentalmente B1, B2, B3. Además del salmón y algunos pescados como las sardinas, arenques, anchoas, son también ricos en vitamina B12. El salmón y otras especies de pescado también contienen vitaminas liposolubles como la E, presente en diversos pescados en cantidades significativas y vitamina A y D (Tabla 4) abundante en su hígado (NORGE, 2012).

**Tabla 5. Minerales más representativos de salmón frente a otros productos marinos (mg/100 g).**

	Sodio	Potasio	Calcio	Hierro	Yodo	Fósforo
Atún	30-50	250-350	30-50	Aprox. 1	0,05	200-220
Bacalao	70-100	300-400	10-15	0,5-0,7	0,1-0,2	150-250
Merluza	100-120	250-350	30-50	1	0,01-0,03	140-170
Salmón	30-60	300-400	10-20	1	0,0035	200-300
Sardina	120-140	300-400	50-100	2-3	0,01-0,02	200-300
Trucha	20-50	400-600	10-20	1	0,0035	200-300
Langosta	200-300	200-400	50-80	2-3	0,1-0,5	200-400
Mejillón	250-400	200-300	20-40	5-6	0,1-0,2	200-300

El salmón fresco supone un aporte importante de sodio. El hierro, está presente en mayor cantidad en los salmones de mar, que en los de agua dulce. También es una buena fuente de potasio y de calcio, mientras que yodo, magnesio, fósforo o zinc se encuentran en menores proporciones (Tabla 5).

### 1.3. ALTERACIONES DEL PESCADO

Los productos de la pesca son altamente perecederos en comparación con otros tipos de alimentos, debido a la celeridad con la que se desencadenan procesos de degradación tales como **ataque** microbiano, actividad enzimática endógena, oxidación de los ácidos grasos y pardeamiento no enzimático. Esto es debido al alto contenido de determinados constituyentes químicos (agua, aminoácidos libres, lípidos con alto grado de insaturación, compuestos nitrogenados no proteicos, enzimas autolíticas, etc.) y al pH poco ácido de su carne. La rapidez con que se deterioran los productos de la pesca depende de factores intrínsecos como la edad, el tamaño, la composición de los tejidos, el estado nutricional y las condiciones fisiológicas del individuo. Es importante también la cantidad y variedad de microorganismos iniciales en el pez, lo que depende del ambiente de origen del animal. Por otra parte, deben tenerse en cuenta los factores extrínsecos que influyen de forma importante, como son las condiciones de captura, el tipo de manipulación/procesado y el método de conservación (Murray y Shewan, 1979; El-Marrakchi y col., 1992; Gennari y col., 1999). A continuación se describen los principales mecanismos de alteración que afectan a las especies marinas:

### 1.3.1. ALTERACIÓN ENZIMÁTICA ENDÓGENA.

---

Los organismos marinos poseen durante su vida una serie de enzimas que desarrollan una actividad fundamental para el desarrollo del individuo. Cuando se produce la muerte del organismo, dichas enzimas pasan a realizar su actividad de forma desordenada, pudiendo dividirse esta actividad en hidrolítica y oxidativa. Después de la captura, los productos marinos presentan una textura flexible y elástica durante unas horas. A continuación, el cuerpo se vuelve duro y rígido. El producto se encuentra en rigor mortis porque el músculo se contrae. La duración del rigor mortis puede ser de uno o dos días, dependiendo de la temperatura de conservación, la manipulación que sufra, el tamaño o las condiciones físicas de los ejemplares. Posteriormente el músculo vuelve a relajarse y recupera la flexibilidad, pero no la elasticidad. Este proceso de rigor mortis se produce por los procesos que se describen a continuación. Tras la muerte del animal el suministro de oxígeno al tejido muscular cesa y no está disponible para la respiración normal, lo que restringe la producción de energía a partir de los nutrientes ingeridos. La principal vía de producción de energía es la glucólisis, que consta de una fase anaeróbica y otra aeróbica, produciendo finalmente dióxido de carbono, agua y adenosina trifosfato (ATP). Al cesar el suministro de oxígeno tras la muerte, la fase aerobia no puede producirse, y la glucólisis genera ácido láctico y ácido pirúvico como productos, de ahí que disminuya el pH en el músculo. Así se reduce considerablemente la producción de ATP en comparación a la vía energética aeróbica, ya que depende de la presencia de creatina (en peces teleósteos) o arginina (en cefalópodos), cesando cuando éstas se agotan en anaerobiosis. Esto conlleva que se reduzca la carga neta de proteínas musculares, desnaturalizándose parcialmente y disminuyendo su capacidad de unirse a moléculas de agua. Ya se han establecido los efectos asociados al rigor mortis (aumento del pH, pérdida de agua, disminución del nivel de ATP). El ATP es una fuente de energía ineludible para la contracción muscular, así como también aporta la plasticidad muscular. Tras el rigor mortis el tejido muscular se reblandece al mismo tiempo que suceden los cambios autolíticos en el músculo. El primero de dichos cambios es la degradación del ATP en ADP, AMP, IMP (inosina monofosfato) e Hx (hipoxantina). La manipulación física del producto acelera estos cambios autolíticos.



Otros cambios autolíticos son los debidos a enzimas proteolíticas, como la descomposición proteolítica (llevada a cabo por proteasas), que se relaciona con un ablandamiento extensivo del tejido muscular, (ejemplo de ello es el desgarrado del vientre de algunas especies pelágicas) que tiene lugar si los ejemplares se conservan refrigerados (Aubourg, 2004; García, 2015; Sanjuás, 2012). Otro cambio asociado a los productos conservados en refrigeración es el desarrollo de lipólisis por la presencia de un gran número de enzimas, como lipasas o fosfolipasas, susceptibles de hidrolizar lípidos de alto peso molecular, como triglicéridos y fosfolípidos, lo que conduce a la formación de ácidos grasos libres, así como otros productos de hidrólisis como diglicéridos, monoglicéridos, bases aminadas, etc. Dichas moléculas son muy reactivas, pudiendo interaccionar con otros constituyentes del músculo, como por ejemplo proteínas, facilitando su desnaturalización y produciendo incluso un descenso del valor nutricional. Estos ácidos grasos libres son más susceptibles de sufrir la oxidación lipídica que las moléculas lipídicas de mayor tamaño, lo que les confiere una importancia especial. En el pescado magro, la producción de ácidos grasos libres ocurre incluso a temperaturas bajas, y se cree que es por acción de fosfolipasas, que producen cambios intensos en los tejidos (en la consistencia de la carne), originando un medio favorable para hidrólisis por microorganismos. Los cambios autolíticos en congelación pueden ocurrir, pero lo hacen de forma mucho más lenta. El deterioro está en relación directa con la calidad de la congelación y del producto congelado. Así, en productos congelados correspondientes a la familia de los gádidos, la principal vía de cambio es la reducción de OTMA en DMA (dimetilamina) y FA (formaldehído). Se ha demostrado que el endurecimiento de merluza congelada se correlaciona con la cantidad de formaldehído en el músculo y que la presencia de formaldehído es mayor a mayor temperatura de congelación (Gill y col., 1982). Esta reducción también aumenta si la manipulación previa al congelado no es correcta. Los cambios a nivel de proteínas en el producto congelado en malas condiciones son fácilmente reconocidos al descongelar el pescado. Normalmente tras la descongelación nos encontramos con un producto brillante, firme y elástico. Si la congelación no ha sido adecuada o ha sido muy prolongada (más de un año) se transformará en opaco y esponjoso. La carne tiende a ceder y romperse y habrá pérdidas importantes de líquido. Al cocinarlos será seco y fibroso. Cuanto menor sea la temperatura de congelación, menor será la desnaturalización de las proteínas. Dentro de

los mecanismos enzimáticos endógenos cabe también mencionar la oxidación enzimática, donde la oxidación de los ácidos grasos se produce por la acción de enzimas de tipo lipoxigenasas, peroxidasas y oxidasas. Estas enzimas tienen un papel de reducida importancia durante la conservación en estado refrigerado, pero en el caso de la conservación en estado congelado su acción puede ser determinante. Las enzimas son inestables al calor, por lo que tratamientos que impliquen temperaturas elevadas destruirán su actividad (García, 2015; Sanjuás, 2012).

### 1.3.2 ALTERACIÓN MICROBIANA.

---

En especies marinas recién capturadas existen factores como el entorno, la manipulación y el procesado que influyen en el tipo y cantidad de microbiota presente en los ejemplares de la especie marina en cuestión (Shewan, 1977; Huss, 1988). Los microorganismos se encuentran en todas las superficies externas (piel y branquias) y en los intestinos de los peces vivos. Los organismos marinos presentan una serie de características intrínsecas específicas que tienen gran influencia en el crecimiento bacteriano y su degradación: naturaleza poiquiloterma, elevado pH muscular post-mortem, alto contenido de nitrógeno no proteico, presencia de OTMA.

Una gran parte de las bacterias presentes en los organismos marinos deteriorados no desempeña ningún papel en su alteración (Makarios-Laham y Lee, 1993). Cada especie marina posee sus propias bacterias específicas en su deterioro. La microbiota presente en los productos marinos consta de psicrófilos Gram negativos (*Pseudomonas*, *Psychrobacter* (*Moraxella*), *Shewanella* y *Flavobacterium*) (Gram y Huss, 1987; Jay, 1971). La mayoría crecen entre 0 y 1°C, pero hay especies de *Pseudomonas* capaces de hacerlo a -3°C aunque sea de forma lenta (Shaw y Shewan, 1968). Son la principal causa de alteración en alimentos refrigerados.

La proliferación de bacterias aerobias (consumidoras de oxígeno) ocasiona la formación de ambiente anaerobio o microaerofílico en el producto. Esto no implica necesariamente que las bacterias anaeróbicas se vean favorecidas en su crecimiento. Hay bacterias que son capaces de llevar a cabo la respiración en anaerobiosis empleando otras moléculas diferentes al oxígeno como aceptoras de electrones, siendo la más

común el OTMA. El componente reducido, la trimetilamina (TMA), es uno de los compuestos dominantes del pescado deteriorado. La producción de TMA está asociada al olor desagradable que aparece en el pescado y otros organismos marinos (al mismo tiempo que el sabor amargo del músculo cocido), cuando el producto ya no es fresco. Las aminas biógenas son moléculas relacionadas también con la actividad de los microorganismos. Se forman por catálisis de enzimas presentes en las bacterias, que interaccionan con aminoácidos libres del pescado. Cabe destacar la histamina como amina biógena que produce intoxicación alimentaria, y que a niveles elevados puede producir envenenamiento (Taylor, 1986). Existen numerosos microorganismos alterantes que pueden producir lipasas extracelulares que catalicen la hidrólisis de ésteres de glicerol ayudando a la formación de ácidos grasos libres. La hidrólisis lipídica, por tanto, tendría una componente de origen microbiana, así como la ya mencionada acción de las enzimas endógenas del propio pescado. En producto congelado, siempre que la temperatura sea lo suficientemente baja – por debajo de 10°C – la acción microbiana se detendrá por el proceso de congelación.

### **1.3.3. OXIDACIÓN NO ENZIMÁTICA.**

---

Durante el procesamiento de las especies marinas, además de la ya comentada hidrólisis, la fracción lipídica puede experimentar otro tipo de alteración conocida como oxidación lipídica. Esta reacción termodinámicamente favorable, pero no cinéticamente, requiere la presencia de un catalizador. Como ya se comentó, las enzimas de tipo lipoxigenasa, oxidasa, peroxidasa, etc., pueden facilitar la puesta en marcha de esta alteración (actividad enzimática endógena). Asimismo, otro tipo de catalizadores (de tipo físico-químico; luz, metales de transición, radicales libres, pH, etc.) pueden dar origen a la oxidación lipídica no enzimática. Estas reacciones (oxidaciones enzimática y no enzimática) dan como resultado la producción de una serie de sustancias, de las cuales algunas tienen sabores y olores desagradables (rancio), mientras que otras contribuyen a cambios en la textura.

La oxidación se produce mediante la adición de oxígeno a los dobles enlaces de lípidos, formando una amplia gama de compuestos, la mayoría con funciones oxigenadas. Estas reacciones pueden alterar el valor nutritivo y sensorial del pescado, ya que implican

pérdida de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y formación de compuestos volátiles con mal olor (Aubourg, 2004; García, 2015). La oxidación conlleva la formación de radicales libres. Al producirse ácidos grasos portadores de radicales libres, estos reaccionan con el oxígeno rápidamente transformándose en peróxidos. Dichos compuestos dan lugar a hidroperóxidos (productos de oxidación primaria) al interaccionar con ácidos grasos insaturados. Estas moléculas son inestables y siguen originando radicales libres, pudiendo sufrir otro tipo de transformaciones de forma que aparezcan productos de oxidación secundarios como cetonas, alcoholes o aldehídos. Durante el almacenamiento en congelación tienen lugar cambios en los lípidos, que se ralentizarán al reducir la temperatura. La oxidación de lípidos conduce a sabores y olores desagradables. Esto puede ser un problema en pescado muy graso, y probablemente explica también la mayor parte de los cambios de sabor en pescado magro. La velocidad de oxidación puede reducirse si se acorta la exposición al oxígeno. Esto se puede lograr mediante la introducción de una barrera en la superficie del producto. Así la congelación en bloque mantiene mejor la calidad del producto que la congelación individual. La utilización de material de embalaje, como el plástico utilizado para separar las piezas en un mismo bloque, ayuda también a mejorar la conservación.

#### **1.3.4. MECANISMOS DE PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO.**

---

Bajo la designación de pardeamiento no enzimático se engloba a un conjunto de reacciones complejas que producen en diversos alimentos la formación de pigmentos pardos o negros, así como modificaciones del olor y el sabor, que pueden ser beneficiosas o no para el producto final. Estas reacciones tienen como sustrato compuestos con funciones de tipo carbonilo, especialmente azúcares reductores o algunas vitaminas. Aminoácidos y proteínas participan como catalizadores por medio de grupos amino libres, produciéndose así un descenso de la disponibilidad de aminoácidos como la lisina, una menor solubilidad y digestibilidad de las proteínas, así como una pérdida de valor nutritivo (Cheftel, 1976). El pardeamiento no enzimático se acelera por calor, siendo mayor durante las operaciones de cocción, pasteurización y deshidratación. Existen otros factores que afectan a las reacciones de pardeamiento (velocidad y naturaleza) como el tipo de azúcar reductor, la actividad del agua y el pH. Las especies marinas poseen un nivel de carbohidratos muy bajo, por lo que son los compuestos formados durante la

oxidación de lípidos los que desempeñan el papel de sustrato en las reacciones de pardeamiento no enzimático. En el caso de moluscos y crustáceos, al tener mayor nivel de carbohidratos que el pescado, podremos considerar también su participación pero de manera minoritaria. Tanto las moléculas de la oxidación primaria como de la secundaria pueden reaccionar con componentes nitrogenados del producto dando lugar a los productos de oxidación terciaria, con el desarrollo de importantes propiedades fluorescentes y desarrollo de pardeamiento. En esta alteración se pierden aminoácidos y ácidos grasos esenciales que llevan a la disminución del valor nutricional de las especies marinas. Las reacciones entre los lípidos oxidados y las proteínas, afectan al valor nutritivo y sensorial del alimento de dos formas: descenso del valor biológico de las proteínas (cambios en los aminoácidos constituyentes) o cambios de digestibilidad (disminución de la velocidad de lipólisis y/o proteólisis). Las consecuencias de estas reacciones son cambios sensoriales en el producto en distintas formas. En cuanto al olor, se pueden producir nuevos compuestos aromáticos, principalmente desagradables; el producto puede oscurecer su color o pardearse; y la textura puede cambiar por la desnaturalización y entrecruzamiento proteico, dando lugar a pérdidas en la calidad (Aubourg, 2004; García, 2015).

#### **1.3.5. MECANISMOS DE PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO.**

---

El pardeamiento enzimático tiene su origen en enzimas propias de los alimentos. Consiste en la transformación de compuestos fenólicos en polímeros coloreados (normalmente pardos o negros) gracias a la actividad de enzimas del tipo polifenol oxidasas. En especies marinas este mecanismo de alteración solamente tiene interés en el caso de crustáceos, donde las reacciones de melanosis (pardeamiento enzimático) son procesos consecuencia también de la alteración del producto por una conservación excesivamente larga o en condiciones indebidas (Aubourg, 2004; Garcia, 2015, Sanjuás, 2012). La melanosis produce el oscurecimiento del producto en zonas externas, por lo que su incidencia es enorme a nivel de valor comercial. Los pigmentos resultantes del pardeamiento enzimático, se designan bajo el término melaninas. Su color final es pardo o negro, pero existe una variedad de colores intermedios (rosa, rojo o azulado).

---

## 1.4 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DEL PESCADO MEDIANTE TRATAMIENTO EN FRÍO

---

### 1.4.1 CONSERVACIÓN DEL PESCADO MEDIANTE REFRIGERACIÓN Y CONGELACIÓN

---

Los productos marinos en la alimentación son una fuente valiosa de proteínas y otros nutrientes. Sin embargo, si estos productos no son manipulados y elaborados correctamente, se puede producir una importante pérdida de sus valores nutricionales y sensoriales, con la posibilidad de dejar al consumidor expuesto al riesgo de sufrir una intoxicación alimentaria. Debido a que el deterioro post mortem posee una cinética elevada, las condiciones de conservación ejercen un gran efecto sobre la calidad del producto (Ashie y col., 1996; FAO, 1994; MAGRAMA, 2012). Así, tanto la manipulación cuidadosa e higiénica como la conservación adecuada, resultan ser parámetros clave para garantizar la salubridad del producto, ya que los daños innecesarios originados durante la manipulación del producto, tales como cortes y heridas, pueden facilitar el acceso de bacterias acelerando la pérdida de calidad. Las modificaciones que va sufriendo el pescado hasta convertirse en pútrido son: El aspecto brillante inicial se torna pálido y con tonalidad parda, amarilla, la capa viscosa de la superficie aumenta, especialmente en las aletas y branquias. Los ojos van hundiéndose y arrugándose de modo gradual; las pupilas se enturbian y la córnea se vuelve opaca. El músculo se ablanda, expulsa jugo al ser oprimido y se hunde fácilmente al ser presionado. Se desarrolla una coloración pardo-rojiza como consecuencia de la oxidación de la hemoglobina. La columna vertebral puede separarse del músculo con facilidad, sobre todo cerca de la cola. Mientras tanto, se produce una sucesión de olores. El olor a fresco y algas marinas da paso a un olor dulce seguido de olor a pescado en malas condiciones, debido fundamentalmente a la presencia de trimetilamina (TMA). Seguidamente, este olor se vuelve de tipo amoniacal. Finalmente, el olor es pútrido debido a la presencia de sulfuro de hidrógeno, indol y otras sustancias con olores desagradables. La refrigeración es una técnica de conservación alimentaria basada en la reducción de la temperatura de los alimentos y mantenerla por encima del punto de congelación entre 8°C y -1°C. El efecto producido por el frío provoca la ralentización de las reacciones químicas y enzimáticas; además, se crean condiciones disgenéticas para el crecimiento y desarrollo de la microbiota alteradora. Por otro lado, el descenso de la temperatura no es tan grande como para detener por completo las

acciones bacteriana, química y enzimática, por lo que los fenómenos de degradación no se evitan completamente. El factor temperatura resulta de especial importancia de cara a frenar la velocidad de descomposición del pescado.

---

#### 1.4.2. REFRIGERACIÓN TRADICIONAL EN HIELO EN ESCAMAS

---

El empleo de hielo en escamas es el método más utilizado en los países desarrollados como método de refrigeración para la conservación de productos marinos en estado fresco. Mediante su aplicación, se consigue enfriar con rapidez el producto, alcanzándose temperaturas ligeramente superiores a 0°C (Heen, 1982) y así extender su vida útil. Este sistema de refrigeración ofrece numerosas ventajas tales como ser inocuo, fácil de transportar y relativamente barato.

Resulta especialmente apropiado para la refrigeración del pescado. Con este método, la transferencia de calor se produce por contacto directo del pescado con el hielo, por conducción entre piezas adyacentes y por el agua de fusión que se desliza sobre la superficie del pescado. El agua de fusión fría, absorbe el calor del pescado y al fluir sobre el hielo se vuelve a enfriar. Así, la mezcla pescado-hielo, no sólo reduce el espesor del estrato de pescado a enfriar, sino que, además, favorece el enfriamiento mediante convección entre el agua de fusión y el pescado. Tan pronto como se coloca el hielo en escamas sobre el pescado caliente, el calor de éste fluye hacia el hielo deritiéndolo. Este proceso continúa mientras exista una diferencia de temperatura entre ambos, siempre que exista hielo suficiente. Toda fusión a posteriori se deberá al calor procedente de otras fuentes, por ejemplo, aire caliente circundante durante el posterior periodo de conservación. A pesar de su amplia utilización, el sistema refleja una serie de inconvenientes tales como: i) El grado de limpieza puede no ser adecuado en todos los casos, ii) La transmisión de calor es mejorable, ya que deja espacios de aire entre el hielo y el producto, de manera que no lo rodea completamente, y iii) Es un sistema difícil de automatizar, requiere de un espacio de conservación relativamente grande y necesita control de otros parámetros como temperatura, humedad relativa y purificación y circulación del aire de la cámara. En el caso de temperatura y humedad, se ha visto que cada especie requiere unas condiciones óptimas de conservación en refrigeración. Como



resultado, en las últimas décadas se han buscado nuevos métodos que permitan mejorar las carencias del hielo tradicional con el fin de mejorar la calidad de los productos de la pesca refrigerados. De estos otros métodos o estrategias avanzadas se realizará una breve descripción en la siguiente sección (Sanjuás, 2012).

---

#### **1.4.3. NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA REFRIGERACIÓN DE ESPECIES MARINAS**

---

En el momento de la descarga en puerto, es posible que la carga de pesca conservada en la bodega lleve un número relativamente elevado de días en refrigeración. Este tiempo a bordo se hace especialmente importante en aquellas especies que son capturadas en alta mar por la denominada flota de altura. Por ello, gran parte de la captura, sobre todo si procede de bancos de peces especialmente lejanos o si se trata de especies de corta vida, puede que ya no estén en condiciones para la venta, lo que se traduce en pérdidas económicas para el sector. Tal y como se viene comentando, los productos marinos constituyen un grupo de alimentos altamente perecederos, y el nivel de su deterioro está directamente relacionado con las condiciones de conservación (García, 2015; Sanjuás, 2012, Aubourg y col., 2005). Con el fin de retardar los daños en el pescado tan pronto como sea posible, se han ensayado distintas estrategias a nivel de pre cosecha y post cosecha al objeto de mejorar el sistema básico de conservación de pescado en hielo tradicional mencionado en la sección anterior, hielo líquido, hielo líquido con ozonización (Toledo-Flores & Zall, 1992; Ashie y col., 1996, Sanjuás, 2012; García, 2015). A continuación se comentan las características de cada uno de estos sistemas de refrigeración.

---

#### **1.4.4. HIELO LÍQUIDO**

---

El hielo líquido es un método de refrigeración alternativo al hielo tradicional; representa una técnica nueva, que está tratando de introducirse en el mercado.

Es un sistema binario que consiste en una suspensión de cristales de hielo. Ilustración 3: Hielo líquido esféricos y microscópicos dispersos finamente en el seno de una solución anticongelante, de aspecto similar a un granizado.

Presenta una alta capacidad de intercambio térmico (mayor de 60 Kcal/kg), claramente superior a la del agua (1 Kcal/kg). El hielo líquido es producido mediante un proceso que



remueve continuamente el hielo creado, quedando suspendido en forma de cristales microscópicos dentro de la solución.



Figura 2. Hielo Líquido

Las ventajas derivadas de la utilización del hielo líquido frente al hielo tradicional en escamas pueden resumirse de la siguiente forma:

1. Permite mantener temperaturas inferiores a  $0^{\circ}\text{C}$  para la conservación por encima del punto inicial de congelación, retardando así el deterioro. La conductividad térmica del hielo líquido es superior a la del hielo en escamas; garantiza por tanto un enfriamiento más eficiente y evita pérdidas y mermas en el producto por mecanismos de desecación.
2. El coeficiente de transferencia superficial de calor del hielo líquido es superior al del hielo en escamas, con lo que el enfriamiento es más rápido.
3. El flujo de hielo líquido en régimen continuo provoca un efecto de lavado superficial del producto. Esto reduce de la carga microbiana a través de la piel.
4. La geometría esférica de los cristales de hielo y su pequeño tamaño limitan el daño físico sufrido en los tejidos del pescado.
5. La presencia de cloruro sódico en concentraciones similares a las del medio marino permite, un mayor efecto conservante, un mejor mantenimiento de la capacidad de retención de agua de la fracción de proteínas miofibrilares.

---

#### 1.4.5. COMBINACIÓN DE HIELO LÍQUIDO CON OZONO

---

La versatilidad de la utilización del hielo líquido lo hace susceptible de combinarse con sustancias antioxidantes, antimicrobianas y antimelanósicas (Erikson, 2012). Dentro de esta estrategia, una posibilidad que ha sido ensayada es la de su combinación con ozono. En la actualidad, numerosos países, tanto europeos para mantener libres de bacterias, virus, mohos y olores de las bodegas de almacenamiento de alimentos (Sanjuás, 2012).

El ozono, aporta las propiedades de esterilidad y de eliminación de olores que confiere el ozono. La destrucción de los microorganismos es debida a la oxidación progresiva de los componentes vitales de la célula (Zeynep y col., 2004). Existen diversas opiniones acerca de a quién atribuir la actividad bactericida del ozono, algunos autores aseguran que es debida a la propia molécula de ozono; otros autores, sin embargo, son partidarios de asignar esta actividad a los productos resultantes de la descomposición del ozono tales como el ion radical superóxido ( $O_2^-$ ), el radical hidroperóxido ( $HO_2^-$ ) y el radical hidroxilo ( $OH^-$ ). Lo que es bien sabido, es que tanto la molécula de ozono como los productos de su descomposición destruyen microorganismos debido a que:

- El ozono oxida varios componentes de la envoltura celular, incluyendo ácidos grasos poliinsaturados, enzimas intracelulares, glucoproteínas y glucolípidos.
- La inactivación enzimática es uno de los mecanismos más importantes mediante el cual el ozono destruye las células.
- El ozono acuoso reacciona con los ácidos nucleicos in vitro, lo que apoya la idea de que el ozono daña el material nucleico dentro de la célula.

#### 1.4.6 MEJORA DE LA CONSERVACIÓN DE SALMÓN CONGELADO MEDIANTE EL DESARROLLO DE DIETAS DE CULTIVO FORMULADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES

---

##### 1.4.6.1 DIETAS DE CULTIVO TRADICIONALES

---

Los alimentos formulados para salmón del Atlántico en etapa de desarrollo se denominan *alimentos de agua dulce para inicio, crecimiento y transferencia de esguines*; y los alimentos de ciclo productivo se denominan *alimentos de agua salada para engorda y reproductores*. Para ello, se utilizan varios carotenoides, incluyendo astaxantina y cantaxantina sintéticas, levadura (p.e. *Phaffia rhodozyma*), algas (v.gr. *Hematococcus pluvialis*) y productos de crustáceos (v.gr. kril y camarón) para impartir un color rosado rojizo atractivo a la carne de salmón (Tacon y Metian, 2008).

##### 1.4.6.2 EFECTO DE LA DIETA EN LA CALIDAD NUTRICIONAL DEL PESCADO.

---

La fabricación de dietas de cultivo normalmente utiliza el método de extrusión, lo cual provoca la gelatinización del almidón, la inactivación de enzimas, la eliminación de los factores anti-nutricionales y el aumento de la digestibilidad de las proteínas vegetales (Cheng y Hardy, 2003). La estabilidad oxidativa del alimento es muy importante, no sólo en términos del crecimiento y la salud de los peces, sino también con respecto a su calidad nutricional (Sutton y col., 2006; Grigorakis y col., 2010). El suministro de aceite de pescado oxidado en la dieta afecta la respuesta al estrés de los peces, como lo demuestran sus niveles plasmáticos de glucosa, cortisol y la osmolaridad (Van Anholt y col., 2004; Alves Martins y col., 2007). En cuanto al efecto sobre la calidad del filete, peces alimentados con piensos oxidados suelen mostrar niveles más bajos de ácidos grasos poliinsaturados en el músculo, lo que reduce su calidad nutricional a los ojos de los consumidores (Zhong y col., 2008). Sin embargo, esto no siempre afecta a la palatabilidad del filete (Koshio y col., 1994).

Como resultado, los antioxidantes naturales están atrayendo la atención de la industria agroalimentaria, por lo que cada vez se está estudiando su aplicación en los

alimentos procesados para el consumo humano (Hernández-Hernández y col., 2009; Kostaki y col., 2009; Ozogul y col., 2009, 2011) estando su uso regulado como un aditivo alimentario (Comisión Europea, 2008), por lo cual la aplicación de estos antioxidantes naturales en la formulación de las dietas de cultivo no solo ayuda a proteger los componentes esenciales del alimento sino que también favorecería significativamente el valor nutricional y la vida útil de la carne de salmón durante la congelación y la refrigeración (Hamre y col., 2010).

---

#### **1.4.6.3 DESARROLLO DE DIETAS DE CULTIVO FORMULADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES**

---

La calidad y la duración de conservación de los productos pesqueros están profundamente influenciadas por factores de pre-cosecha y procesamiento post-cosecha y métodos de almacenamiento (Erikson y col., 2002). Se producen a menudo, cambios en la calidad gradualmente durante el período de almacenamiento posterior a la cosecha como resultado de procesos oxidativos, enzimáticos y/o bacterianos. Estos procesos degradan las cualidades de sabor, gusto y aroma y promueven cambios a la textura, color, pH y el estado nutricional, que en última instancia pueden hacer que los productos de la pesca no sean aptos para el consumo y no comercializables (Bonilla y col., 2007).

Los pescados son sumamente propensos a la oxidación de lípidos debido a los altos niveles de poliinsaturados ácidos grasos (AGPI) en su carne, lo que limita el tiempo de almacenamiento de los productos pesqueros (Jittinandana y col., 2006). Enriquecer tejidos con antioxidantes tal como acetato de  $\alpha$ -tocoferol añadido a la dieta antes de la cosecha ha demostrado que retrasa la tasa de oxidación de lípidos en diversos productos cárnicos (Liu y col., 1995), incluyendo pescado (Chen y col., 2008). Los antioxidantes tales como acetato de  $\alpha$ -tocoferol son eficaces en la captura de radicales libres en ambos los pasos de iniciación y propagación de la autooxidación (San Angelo y col., 1996) restringiendo con ello la oxidación lipídica y deterioro postcosecha de la calidad. Esto se ha demostrado mediante la mejora de la calidad y la duración de la conservación de productos marinos (Medina y col., 2012).

#### 1.4.6.4 UTILIZACIÓN DE TOCOFEROLES EN DIETAS PARA PECES.

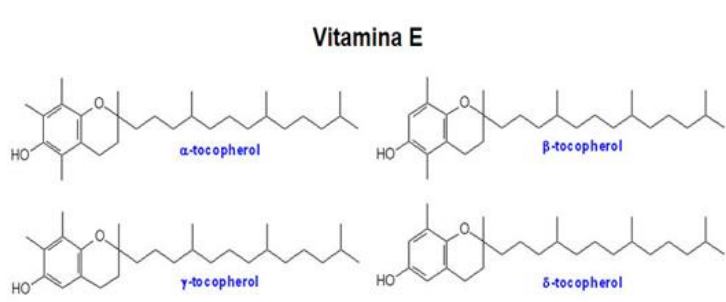


Figura 3. Estructuras de tocoferoles más comunes.

Enriquecer tejidos con antioxidantes tales como acetato de  $\alpha$ -tocoferol añadido a la dieta antes de la cosecha ha demostrado que retrasa la tasa de oxidación de lípidos en diversos productos cárnicos (Liu y col., 1995), así como en pescado (Chen y col., 2008; Frigg y Col., 1990). Los antioxidantes tales como acetato de  $\alpha$ -tocoferol son eficaces en la captura de radicales libres en ambos pasos de iniciación y propagación de la autooxidación (San Angelo y col., 1996) restringiendo con ello la oxidación lipídica y deterioro postcosecha de la calidad. Esto se ha demostrado mediante la mejora de la calidad y la duración de la conservación de productos marinos (Frigg y col., 1990).

En las grasas y aceites se pueden encontrar muchas formas de tocoferoles con actividad de vitamina E. Cada tocoferol tiene una actividad biológica diferente, siendo el D- $\alpha$ -tocopherol el de mayor actividad biológica (Halver, 1989). El ácido ascórbico actúa sinérgicamente con la vitamina E para prevenir daños por peroxidaciones. El  $\alpha$ -tocopherol sintético en la forma de ésteres de acetato o fosfato son los más comúnmente usados. El papel de un tocoferol (TOH), como la última defensa antioxidante de los tejidos musculares, también es apoyado por la capacidad del ácido ascórbico (AA) y otros componentes reductores del músculo para regenerar un  $\alpha$ -TOH de la forma oxidada de radical tocoferoxilo (Buettner, 1993). Se sugiere esta cooperación redox para explicar el sinergismo antioxidante que se produce cuando  $\alpha$ -TOH y AA están conjuntamente presentes. El AA hidrófilo es también un importante componente antioxidante de los

tejidos musculares debido a su actividad inhibidora de la oxidación de lípidos a través de un radical libre del mecanismo de captación (Frankel, 1998).

#### 1.4.6.5 UTILIZACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO EN DIETAS.

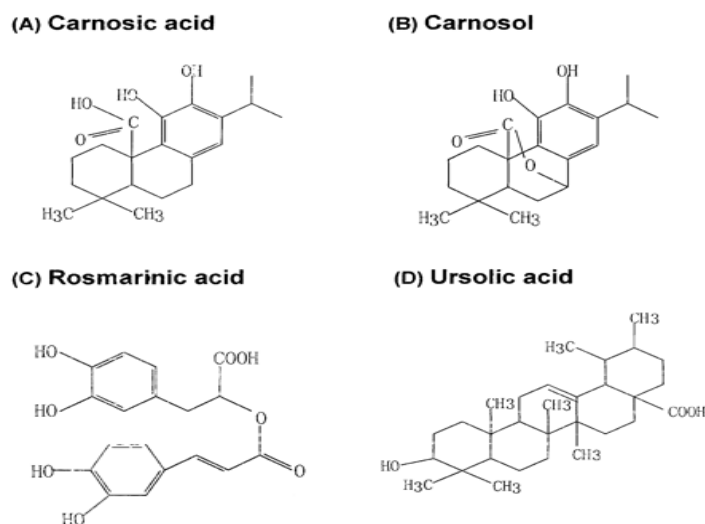


Figura 4. Estructuras de polifenoles principales de Romero

El extracto de romero se ha utilizado exitosamente contra la oxidación de lípidos y ha demostrado mejorar varios índices de frescura, cuando se aplica a filetes. En un estudio comparativo de los extractos comerciales, Cuvelier y col. (1996) y del Baño y col. (2003) demostraron que los compuestos más activos eran carnosol, ácido rosmarínico y ácido carnósico. Otra cualidad importante de extracto de romero es su capacidad antimicrobiana, como demuestra Davidson (1993), al observar que los compuestos polifenólicos no polares de romero tenían mayor actividad sobre las bacterias Gram-positivas que sobre las bacterias Gram-negativa (Ivanovic y col., 2012). Los efectos de la utilización exógena de romero en la conservación del pescado han sido ampliamente estudiados por muchos autores diferentes. Estos estudios se han basado en la congelación de pescado fresco (Ozogul y col., 2011) y su almacenamiento en refrigeración o cocinar de diferentes maneras con romero y el estudio de sus propiedades protectoras (Ozogul y col., 2009). Sin embargo, pocos estudios se han centrado en la administración diaria de extracto de romero para los peces y sus efectos posteriores sobre la preservación (Álvarez et al., 2012).

#### **1.4.6.6 INTERACCIÓN ENTRE POLIFENOLES DE LA DIETA Y ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS.**

Entre los alimentos cárnicos están los peces pelágicos, siendo el sistema muscular de su carne particularmente susceptible a la oxidación de lípidos debido a la coexistencia de ácidos grasos de cadena larga poliinsaturada (AGPI) altamente oxidables y sustancias pro-oxidantes con la capacidad para catalizar la oxidación de lípidos, tales como metales y hemoproteínas con actividad redox (Erickson, 2002). La hemoglobina del músculo ha demostrado una extensa actividad pro-oxidante de lípidos (Maestre y col., 2011). Componentes antioxidantes del músculo de pescado, que incluyen tanto las sustancias lipofílicas e hidrofílicas, son secuencialmente consumidos en condiciones post mortem. Varios autores han relacionado el agotamiento post mortem de antioxidantes endógenos de músculo de pescado con la llamada " ley del más fuerte " (Pazos y col., 2005). La "jerarquía" postula un rápido consumo de los antioxidantes con una mayor facilidad para donar un electrón, es decir, con la reducción de un electrón estándar se obtienen potenciales más bajos (Buettner, 1993). Entre los componentes antioxidantes de los tejidos musculares, se sugiere al alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TOH) para reproducir una función central ya que es el principal antioxidante endógeno de lípidos solubles capaz de romper la cadena degradativa y se ha informado como una de las últimas barreras que protegen el músculo de pescado contra la oxidación lipídica (Pazos y col., 2005). Por otro lado, el extracto de romero tiene un efecto similar al del BHT en el almacenamiento y en la transformación de los piensos extruidos, siendo mejor que la de los aceites esenciales de tomillo (Hernández y col., 2014).  $\alpha$ -TOH y AA demostraron un efecto protector de la oxidación de lípidos, y las procianidinas la capacidad para reparar  $\alpha$ -TOH oxidado a medio-largo plazo, y así retrasar el agotamiento de AA eficientemente en las primeras etapas post mortem (Iglesias y col., 2012).

---

### **1.5 ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DE PESCADO MEDIANTE APLICACIÓN DE ALTAS TEMPERATURAS**

---

#### **1.5.1 ENLATADO CONVENCIONAL DE PESCADO**

La conserva es un método de conservación de los alimentos inventado por el francés Nicolás Appert a finales del siglo XVIII. El proceso, que asocia un tratamiento



térmico y un envase estanco, preserva las cualidades nutricionales, vitamínicas y organolépticas de los productos. Es un método de esterilización natural que no necesita aditivos y que permite preparar los alimentos con una rapidez y una facilidad inigualables (Brennan, 1994; Sikorski, 1994). Hoy, en pleno siglo XXI, las conservas tienen más vigencia que nunca en una alimentación moderna, equilibrada, gastronómica y diversificada. Cada año se fabrican en el mundo miles de millones de latas de acero para conservar los alimentos. Al conjugar resistencia y seguridad, facilidad de uso y reciclabilidad, el envase de acero se ha convertido en el mejor aliado para cuidar la salud a través de la alimentación y para proteger nuestro entorno. Los elementos esenciales, los glúcidos, los lípidos y las proteínas contenidos en los alimentos casi no se modifican durante el proceso de conservación. La oxidación de los lípidos es poco frecuente en comparación con la cocina casera, durante la cual muchas veces se suele producir peroxidación que, en algunos casos, puede convertirse en un riesgo sanitario. En cuanto a las proteínas y los glúcidos, la única modificación menor que se produce facilita la digestión de estos elementos.

#### **1.5.1.1. Extractos de algas aplicables como medios de cobertura de conservas.**

---

Numerosos estudios han demostrado que varios tipos de algas y sus subproductos tienen compuestos menores con actividad antioxidante contra la peroxidación de lípidos (Jiménez-Escrig y col., 2012). Cochayuyo, ulte, lechuga de mar, y luche rojo (Figura 3) son algas muy populares en Chile como recetas para el consumo humano directo y esto, junto con su alta disponibilidad en costas chilenas son importantes razones para el estudio del efecto de sus propiedades antioxidantes en la conservación de pescado. Los extractos de algas marinas son una excelente fuente de compuestos antimicrobianos, antioxidantes y funcionales (Cian y col, 2015, 2014). Estos pueden ser usados para el tratamiento de infección bacteriana y alteración de la calidad del pescado. Además, los extractos de algas por ser no tóxicos pueden ser utilizados en las industrias de acuicultura como agente de inocuidad y por la industria del pescado procesado como preservante (Thanigaivel y col., 2015).





**Figura 5. Algas *Durvillaea antarctica*, *Ulva lactuca* y *Macrocystis pyrfera***

La tendencia actual de la utilización de derivados naturales bioactivos de origen algal, es un enfoque respetuoso del medio ambiente en la acuicultura para el control de la infección (Stalin y col., 2008). Thanigaivel y col. (2015) recientemente determinaron la capacidad antimicrobiana de dos extractos acuosos y etanólicos de dos especies de algas *Gymnospora Padina* y *Sargassum cinereum*. La tendencia actual es utilizar productos naturales de origen algal, cuyos actividades tienen lugar, no sólo en los alimentos envasados, sino también una vez que el alimento ha sido ingerido. Tales productos incluyen péptidos con actividades nutraceuticas y los compuestos fenólicos entre otros (Cian y col., 2014).

### 1.5.2 CONSERVACIÓN DE PESCADO POR SECADO

En la mayor parte del mundo, el secado del pescado se realiza todavía al aire libre, usando la energía del sol (secado solar) para evaporar el agua y las corrientes de aire para llevarse el vapor (Brennan, 1994; Sikorski, 1994). Los modernos avances diseñados para acelerar este lento proceso se han centrado en la utilización de: i) temperatura más elevada para incrementar la velocidad de evaporación, ii) mayor velocidad del aire para arrastrar el vapor de agua, y iii) aumentar el gradiente de transferencia de calor por superficie. Los parámetros que son propiedades del medio de secado, en este caso, se obtienen mediante curvas psicrométricas. El aire está saturado cuando, a una temperatura y presión dadas, no puede contener más vapor de agua sin que ocurra condensación. La humedad relativa (%HR) es la humedad absoluta dividida por la humedad del aire saturado en las mismas condiciones de temperatura y presión,

asumiendo la masa unitaria de aire seco en ambos casos. Volumen específico es el volumen total de 1 kg de aire seco más el vapor contenido en él a temperatura y presión específicas. La temperatura de rocío es aquella a partir de la cual el vapor contenido en una mezcla de aire/vapor de agua condensa.

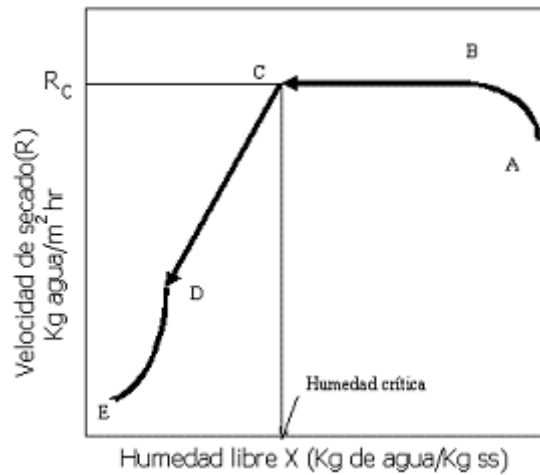


Figura 6. Periodos de secado.

La temperatura húmeda es muy importante en las etapas iniciales del secado porque el agua se evapora libremente de la superficie del pescado cuando ésta se encuentra a la temperatura del bulbo húmedo. Cuando el agua se evapora de una superficie, ésta se enfría a una temperatura por debajo de la del ambiente, suministrando la energía del calor latente para evaporar el agua. El gradiente de temperatura creado de esta manera provoca un flujo de energía calorífica desde el aire hacia la superficie, la cual, a cambio, suministra más calor latente para una mayor evaporación de agua. El equilibrio se alcanza eventualmente a una temperatura específica, llamada temperatura húmeda, donde la pérdida de calor de la superficie debida a la evaporación de agua está equilibrada por la ganancia de calor por la superficie, aportada por aire que fluye por encima.

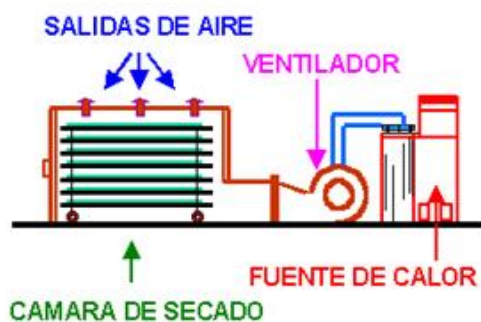


Figura 7. Sistema de secado por aire

Cabe profundizar aún más en la aplicación de la temperatura húmeda en el secado del pescado, por ejemplo, en el bacalao, que empieza a cocerse a temperaturas superiores a 30°C. En la práctica esto podría significar que el músculo de pescado podría romperse o caerse desde los ganchos en los que se ha colgado para secarse durante la primera parte del proceso. Esto sería consecuencia de la desnaturalización proteica provocada por el calor y, además, daría un producto que necesitaría mantenerse a niveles de humedad más bajos que los correspondientes a productos secados a baja temperatura con el mismo nivel de  $a_w$  para una conservación a más largo plazo.

Temperaturas húmedas elevadas durante las etapas iniciales del secado y la consecuente desnaturalización proteica afectan adversamente a las propiedades sensoriales del pescado. Las estructuras de las proteínas desnaturalizadas no se asocian con agua del mismo modo que las proteínas no desnaturalizadas, o al menos en la misma cantidad. Por lo tanto, cuando se reconstituya, la palatabilidad de este pescado se asemejará a la de fibras mojadas e inertes, como algodón, alejándose de la succulencia típica de las proteínas de pescado y carne.

## 1.6 BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, A.**, García García, B., Jordán, M.J., Martínez-Conesa, C., Hernández, M.D., The effect of diets supplemented with thyme essential oils and rosemary extract on the deterioration of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during storage on ice. Food Chem. 2012, 132, 1395–1405.
- Alves Martins, D.**, Afonso, L.O., Hosoya, S., Lewis-McCrea, L.M., Valente, L.M., Lall, S.P., 2007. Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the stress response in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture 272 (1), 573-580.
- Ashie, I.**, Smith, J. & Simpson, B. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and Shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 1996, 36, 87–121.
- Aubourg, S. P.**, Vinagre, J., Rodríguez, A., Losada, V. et al., Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2005, 107, 411–417.
- Aubourg, S.**, Pérez-Alonso, F. & Gallardo, J. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. European Journal of Lipid Science and Technology. 2004, 106, 232–240.
- Bonilla TD**, Nowosielski K, Cuvelier M, Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure. Marine Pollution Bulletin. 2007, 1472-1482
- Brennan, J.G.**; Butters, J.R.; Cowell N.D. 1994. Las operaciones de la ingeniería de los
- Buettner, G. R.** The pecking order of free radicals and antioxidants: Lipid peroxidation, a tocopherol and ascorbate. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1993, 300, 535-543.
- Cheftel, J.C.**, Cheftel, H. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I (ISBN: 84-200-044-8 1976) Y ii (isbn: 84-200-0512-6). Editorial Acirbia.
- Chen, Y.C.**, Nguyen, J., Semmens, K., Beamer, S., Jaczynski, J. Effects of dietary alphatocopherol acetate on lipid oxidation and alpha-tocopherol content of omega-3 enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. LWT — Food Sci. Technol. 2008, 41, 244–253.
- Cheng, Z.J.**, Hardy, R.W., Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Nutr. 2003, 9 (2), 77–83.
- Cian R.**, Antonela G. Garzon, David Betancur Ancona, Luis Chel Guerrero, Silvina R. Drago. Hydrolyzates from *Pyropia columbina* seaweed have antiplatelet aggregation, antioxidant and ACE I inhibitory peptides which maintain bioactivity after simulated gastrointestinal digestion. LWT - Food Science and Technology. 2015 (64) 881 – 888
- Cian, Raúl E.**, Pablo R. Salgado, Silvina R. Drago, Rolando J. González, Adriana N. Mauri. Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers. Food Chemistry. 2014, 146, 1, 6-14.
- Cuvelier, M.E.**, Richard, H., Berset, C. Antioxidative activity and phenolic composition of

pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1996, 73 (5), 645–652.

**Davidson, P.M.** Parabens and phenolic compounds. *Food Science and Technology*. N. York- Marcel Dekker, 1993, 263.

**Del Baño, M.J.**, Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., del Río, J.A., Ortuño, A., Quirin, K., Gerard, D. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51 (15), 4247–4253.

**El Marrakchi, A.**, Bouchrit, N., Bennour, N., Hamama, A., Koufaka, A., The bacteriology of Moroccan Sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. I Nature of the bacterial flora. *Microbiol. Alim. Nutr.* 1992, 10, 61–68.

**Erickson, M. C.** Lipid oxidation of muscle foods. In C. C. Akoh & D. B. Min fish muscle on the development of lipid oxidation and rancidity during storage. for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.* 2002, 73, 3131–3140.

**Erikson U.** Assessment of different stunning methods and recovery of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*): isoeugenol, nitrogen and three levels of carbon dioxide *Animal Welfare*. 2011, 20: 365-375, ISSN 0962-728

**Frankel, E.** Review: Recent advances in lipid oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1991, 54, 495-511.

**Garcia Soto, B.** Evaluación de metodologías avanzadas de Conservación de especies marinas capturadas por la flota Gallega de caladeros Comunitarios. Tesis Doctoral Univ. Santiago de Compostela. 2015.

**Gennari M.**, Tomaselli S., Cotrona V. The microflora of frechs and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) Sea and stored ice. *Food Microbiol.* 1999, 16, 15-28.

**Gram. L.**, Trolle, G., Huss H.H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 1987, 4, 65-72

**Grigorakis, K.**, Giogios, I., Vasilaki, A., Nengas, I. Effect of the fish oil, oxidation status and of heat treatment temperature on the volatile compounds of the produced fish feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2010, 158 (1), 73–84.

**Halver, J.E.** *Fish Nutrition*, Second edition. 1989. Academic Press, San Diego. C.A.

**Hamre, K.**, Kolås, K., Sandnes, K., Protection of fish feed, made directly from marine raw materials, with natural antioxidants. *Food Chem.* 2010, 119 (1) 270–278.

**Heen, E.** Developments in chilling and freezing of fish. *International Journal of Refrigeration*. 1982, 5, 45-49.

**Hernández A, B.** García García, M.J. Jordán, M.D. Hernández. Natural antioxidants in extruded fish feed: Protection at different storage temperatures. *Animal Feed Science and Technology*. 2014. 195, 112–119

**Hernández-Hernández, E.** Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M.E., Guerrero Legarreta, I. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare*

L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Sci.* 2009, 81 (2), 410–417.

**Huss, H. H.** El pescado fresco: Su calidad. Documento técnico de pesca nº348. 1998, FAO. Roma. Italia.

**Iglesias, J.**, Pazos M, Torres, JP, Medina I. Antioxidant mechanism of grape procyanidins in muscle tissues: Redox interactions with endogenous ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol. *Food Chemistry* Volume 134, Issue 4, 15 October. 2012, Pages 1767–1774

**Ivanovic, J.**, Misic, D., Zizovic, I., Ristic, M. In vitro control of multiplication of some food associated bacteria by thyme, rosemary and sage isolates. *Food Control* 2012, 25, 110–116.

**Jay, J.** Microbiología moderna de los alimentos. (Ed.) Acribia, Zaragoza, España. 1971, 320 pp

**Jiménez-Escrig, A.**, Gómez-Ordóñez, E., Rupérez, P., Brown and red seaweeds as potential sources of antioxidant nutraceuticals. *J. Appl. Phycol.* 2012, 24, 1123–1132.

**Jittinandana, S.**, P.B. Kenney, S.D. Slider, N. Kamireddy & J.A. Hankins. High dietary vitamin E affects storage stability of frozen-refrigerated trout fillets. *J. Food Sci.* 2006, 71: 91-96.

**Koshio, S.**, Ackman, R.G., Lall, S.P. Effects of oxidized herring and canola oils in diets on growth, survival, and flavor of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *J. Agric. Food Chem.* 1994, 42 (5), 1164–1169.

**Kostaki, M.**, Gitrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiol.* 2009, 26 (5), 475–482.

**Liu, Q.**, Lanari, M.C., Schaefer, D.M. A review of dietary vitamin E supplementation. *J. Anim. Sci.* 1995, 73:3131-3140.

**Maestre, R.**, Pazos, M., & Medina, I. Role of the Raw Composition of Pelagic Fish Muscle on the Development of Lipid Oxidation and Rancidity during Storage. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59 (11), pp 6284–6291.

**Makarios-Laham, I.**, Lee T.C. Protein hydrolysis and quality deterioration of refrigerated and frozen seafood due to obligately psychrophilic bacteria. *J. Food Sci.* 1993. 58, 310-313.

**MAGRAMA.** Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente; Centro Técnico Nacional de Conservación de Productos de la Pesca y la Acuicultura (ANFACOCECOPESCA). Guía de las cualidades nutricionales de los productos procedentes de la pesca extractiva y de la acuicultura: binomio riesgo-beneficio. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2012.

**Murray, C.K.** and J.M. Shewan The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrotrophs. In: Russell, A.D. and R. Fuller (eds.) Cold tolerant microbes in spoilage and the environment, Academic Press. 1979, 117-136.

**NORGE, 2012.** Consejo de Productos del Mar de Noruega <http://www.mardenoruega.es>



**Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; FAO.** Almacenamiento congelado y refrigerado en las pesquerías. FAO DOCUMENTO TÉCNICO DE PESCA 340. Editado por W.A. Johnston, F.J. Nicholson, A. Roger and G.D. Stroud. CSL Food Science Laboratory. Torry, Aberdeen, Scotland, UK. 1994.

**Ozogul, Y., Durmuş, M., Balıkcı, E., Ozogul, F., Ayas, D., Yazgan, H.** The effects of the combination of freezing and the use of natural antioxidant technology on the quality of frozen sardine fillets (*Sardinella aurita*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 2011, 46, 236–242.

**Ozogul, Y., Ozyurt, G., Kuley Boga, E.,** Effects of cooking and reheating methods on the fatty acid profile of sea bream treated with rosemary extract. *J. Sci. Food Agric.* 2009, 89 (9), 1481–1489.

**Pazos, M., González, M. J., Gallardo, J. M., Torres, J. L., & Medina, I.** Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. *European Food Research and Technology.* 2005, 220, 514–519.

**SalmónChile.** 2015. <http://www.salmonexpert.cl>

**Sanjuáz-Rey, Minia.** Aplicación de sistemas avanzados para la mejora de la calidad de productos marinos refrigerados de interés comercial. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago: Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, 2012.

**Shaw, B.G., Shewan, J.M.,** Psychrophilic spoilage bacteria of fish. *J. Appl. Bacteriol.* 1968, 31, 89 – 96.

**Shewan, J.M.** The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: *Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish.*, Tropical Products Institute, London. 1977, 51-66.

**Sikorski Zdzisław E.** Tecnología de los productos del mar, recursos, composición nutritiva y conservación. 1994. Ed. Acribia. Zaragoza. ES.

**St. Angelo, A.J., Vercellotti, J., Jacks, T., Legendre, M.,** Lipid oxidation in foods. *Crit. stability of trout fillets. Aquaculture.* 1996, 84, 145–158.

**Stalin, S.I., Kiruba, S., Das, S.S.M.,** A comparative study in the toxicity of a synthetic pyrethroid Deltamethrin and a neem based pesticide Azadirachtin to *Poecilia reticulata* Peters 1859 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 2008, 8, 1–5.

**Sutton, J., Balfry, S., Higgs, D., Huang, C.H., Skura, B.,** Impact of iron-catalyzed dietary lipid peroxidation on growth performance, general health and flesh proximate and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in seawater. *Aquaculture* 2006, 257 (1), 534–557.

**Tacon AGJ, Metian, M.** Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 2008, 285 (1), 146-158

**Taylor, S. L.** Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. CRC (1986).

**Thanigaivel, S., Natarajan Chandrasekaran, Amitava Mukherjee, John Thomas** Investigation of seaweed extracts as a source of treatment against bacterial fish pathogen. *Aquaculture.* 2015, 448 82–86.

**Toledo-Flores L, Zall R.** Methods for extending the storage life of fresh tropical fish in

Flick, G, Martin R (Eds.) *Advances in Seafood Biochemistry*, 1992. pp. 233-243. Technomic Publishing, Lancaster, PA, USA.

**Valenzuela, A.** El Salmón; Un banquete de salud. *Rev. Chilena de Nutrición*. 2005. Rev. v.32 n.1 Santiago abr. Versión On-line ISSN 0717-7518

**Van Anholt, R.D.**, Spanings, F.A.T., Koven, W.M., Nixon, O., Bonga, S.W., Arachidonic acid reduces the stress response of gilt head sea bream *Sparus aurata* L. *J. Exp. Biol.* 2004, 207 (19), 3419–3430.

**Volkan K.;** A comparison of the survival and growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta fario*) fry. *African Journal of Agricultural Research* 2011, 4 March, Vol. 6(5), pp. 1274-1276, York: Marcel Dekker, Inc.

**Zhong, Y.**, Lall, S.P., Shahidi, F. Effects of dietary oxidized oil and vitamin E on the growth, blood parameters and body composition of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* (Linnaeus 1758). *Aquacult. Res.* 2008, 39 (15), 1647–1657.

**Zynep, B.** Guzel-Sydem, Annel K. Greene, A.C. Seydim. Use of ozone in the food industry. *LWT- Food Science and Technology*, 2004. 37, 453-460.





## 2. PUNTO DE PARTIDA, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

---

### 2.1 PUNTO DE PARTIDA DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA.

---

La actual demanda creciente del consumidor por salmónidos frescos de alta calidad ha llevado a la búsqueda de tratamientos ventajosos y prácticos que puedan proporcionar la mejora de las condiciones de conservación de la calidad de estos productos y de esta manera potenciar su comercialización en el mercado internacional.

El punto de partida de este trabajo fue la obtención de un financiamiento para el intercambio de investigadores chilenos y españoles bajo el marco del programa de cooperación Universidad de Chile – CSIC y posterior obtención de un financiamiento para realizar estudios preliminares mediante un proyecto interno de la Universidad de Chile (Proyecto Domeyko) que tuvo la finalidad de optimizar la inocuidad de los salmónidos producidos en Chile y su valoración como alimento altamente saludable mediante el estudio de su composición y propiedades funcionales. Los resultados indicaron la necesidad del desarrollo de nuevas alternativas de conservación de la calidad de los salmónidos. Por lo cual los esfuerzos se enfocaron principalmente en el estudio de nuevos métodos que aseguren la inhibición de la oxidación lipídica de la carne de salmónidos. En esta instancia se tomó como estrategia inicial la aplicación de hielo líquido combinado con ozono; este estudio fue apoyado a través de una subvención de la Secretaría Xeral de I+D mediante el proyecto de la Xunta de Galicia (Proyecto PGIDIT 05 TAL 00701CT). Este estudio inicial generó la posibilidad de gestionar una serie de estudios posteriores realizados en diferentes etapas, en las cuales participaron investigadores y profesionales de entidades privadas y públicas de Chile y España donde las actividades fueron las siguientes:

Participación de la empresa Ewos Innovative Research (XII Región, Puerto Montt, Chile) para la aplicación de extractos naturales en el desarrollo de dietas para salmónidos.

Participación de los investigadores en un proyecto de desarrollo de nuevos extractos naturales derivados de residuos agroindustriales financiado por el gobierno de Chile (proyecto Corfo II ICE 9856).

Los estudios realizados involucraron la aplicación de sistemas inocuos y naturales en las diferentes etapas de la cadena productiva mediante la combinación de diferentes modalidades de preservación de salmónidos en procesos de congelación, refrigeración, enlatado y secado.

Esta investigación implicaría el inicio de una serie de trabajos bajo el objetivo de “Inhibir la alteración lipídica durante la conservación de salmónidos comerciales mediante la aplicación de diferentes estrategias preservantes” y cuyos Objetivos y Plan de Trabajo se describen a continuación.

## **2.2. OBJETIVOS PERSEGUIDOS**

El objetivo global del presente estudio es desarrollar y probar metodologías novedosas de conservación de productos marinos frescos basadas en el empleo de sustancias de naturaleza inocua y/o de carácter natural, de forma que se inhiba parcialmente el desarrollo de la alteración lipídica del producto y se alargue el tiempo de vida útil de las especies salmónidas comerciales tratadas.

Dentro del objetivo global podemos definir una serie de objetivos parciales:

1. Mejorar la calidad de trucha arcoíris refrigerada durante su conservación en refrigeración mediante la aplicación de hielo líquido y ozono con propiedades preservantes.
2. Mejorar la calidad de salmón coho durante su conservación en estado congelado mediante el desarrollo de formulaciones de dietas de cultivo adicionadas con extracto de romero y alfa-tocoferol alternativos al uso de antioxidantes sintéticos.
3. Mejorar la conservación de salmón Atlántico enlatado mediante la aplicación de extractos de algas como medio de empaque.
4. Optimizar el proceso de secado convencional al objeto de mantener la calidad de salmón Atlántico.

Para alcanzar tanto el objetivo global, como cada uno de los objetivos parciales, se ha llevado a cabo el siguiente Plan de Trabajo preestablecido.

## **2.3. PLAN DE TRABAJO**

---

Teniendo en cuenta los objetivos y los resultados de los experimentos previos descritos, se definió el plan de trabajo en cuatro partes:

### **2.3.1 PARTE 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO**

---

Su objetivo básico fue evaluar los efectos derivados de aplicar la tecnología del hielo líquido ozonizado sobre la calidad organoléptica y bioquímica de productos de acuicultura.

Para esto se utilizó como especie representativa la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) para luego comparar los resultados de su conservación en hielo líquido (condición FI) y hielo líquido ozonizado (condición OFI). Se evaluó también, la aceptación sensorial y cambios físicos en la trucha arco iris conservada con ambos sistemas de refrigeración.

A esta parte le corresponde el capítulo 1, de la PARTE 1 de la sección de Resultados y Discusión.

### **2.3.2 PARTE 2. CONSERVACIÓN DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE EL DESARROLLO DE FORMULACIONES DE DIETAS DE CULTIVO ADICIONADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES ALTERNATIVOS AL USO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS**

---

Uno de sus objetivos fundamentales fue la complementación o sustitución de antioxidantes sintéticos BHT y etoxiquina en la formulación de dietas de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). El estudio se basó en la alimentación de salmón coho durante el cultivo, con dietas de alimento suplementadas con extracto de romero y alfa-tocoferol con y sin combinación con BHT y etoxiquina. El desarrollo de la formulación contó con el soporte de la empresa Ewos Innovative Research (Puerto Montt, Chile) siendo uno de los indicadores la caracterización de la calidad bioquímica y sensorial del filete de salmón. Otro objetivo igualmente importante fue la definición de las concentraciones y condiciones adecuadas de la formulación en la inhibición de la alteración de propiedades de la carne de salmón coho y extensión del tiempo de su vida útil. Una vez preparadas

las dietas por la empresa EWOS, ésta proporcionó 6 jaulas con cerca de 1000 individuos cada una. De esta forma se realizó un diseño experimental en que los peces fueron cosechados y congelados durante 18 meses, evaluando periódicamente la oxidación e hidrólisis lipídica, los resultados se compararon con los obtenidos para pescado almacenado congelado previamente alimentados con dieta control con BHT y etoxiquina. Por otro lado, se evaluó el efecto de las dietas ensayadas en la composición de la carne de salmón coho incluyendo el contenido de antioxidantes endógenos, perfil lipídico, color entre otros.

Este estudio proporcionará una primera aproximación de una nueva estrategia aplicada en la etapa de cultivo mediante el uso de extractos antioxidantes naturales e inocuos para mejora de la conservación postcosecha en almacenamiento congelado.

A esta parte le corresponden los capítulos 2 y 3, de la PARTE 2 de la sección de Resultados y Discusión.

---

### **2.3.3 PARTE 3. MEJORA DE LA CALIDAD DE SALMÓN ATLÁNTICO MEDIANTE TRATAMIENTO A ALTAS TEMPERATURAS: ENLATADO CON APLICACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES Y OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE SECADO.**

---

El objetivo de esta investigación se basa en el estudio de los efectos de la adición de diferentes extractos de algas sobre los parámetros calidad bioquímica y sensorial de carne de salmón Atlántico (*Salmo salar*) enlatado. Para este propósito, cuatro extractos diferentes de algas marinas fueron probados: lechuga de mar (*Ulva lactuca*), luche rojo (*Macrocystis pyrifera*) cochayuyo y ulve (frondas y tallo de *Durvillaea antarctica*, respectivamente) como líquidos de cobertura contra un control, sin extracto de algas marinas. El efecto de los componentes bioactivos de las algas sobre la calidad de las conservas fue evaluado durante el almacenamiento en condiciones aceleradas de oxidación. Los resultados obtenidos en esta investigación indicaron la posibilidad de la utilización de las algas marinas como una nueva fuente alternativa de antioxidantes naturales en la mantención de la calidad de pescados grasos enlatado.

Por otro lado, se realizó un estudio de los efectos de secado convencional sobre la calidad bioquímica y sensorial de filetes de salmón. Además, se estudió el efecto de las condiciones de secado en características físicas del filete de salmón. Mediante este

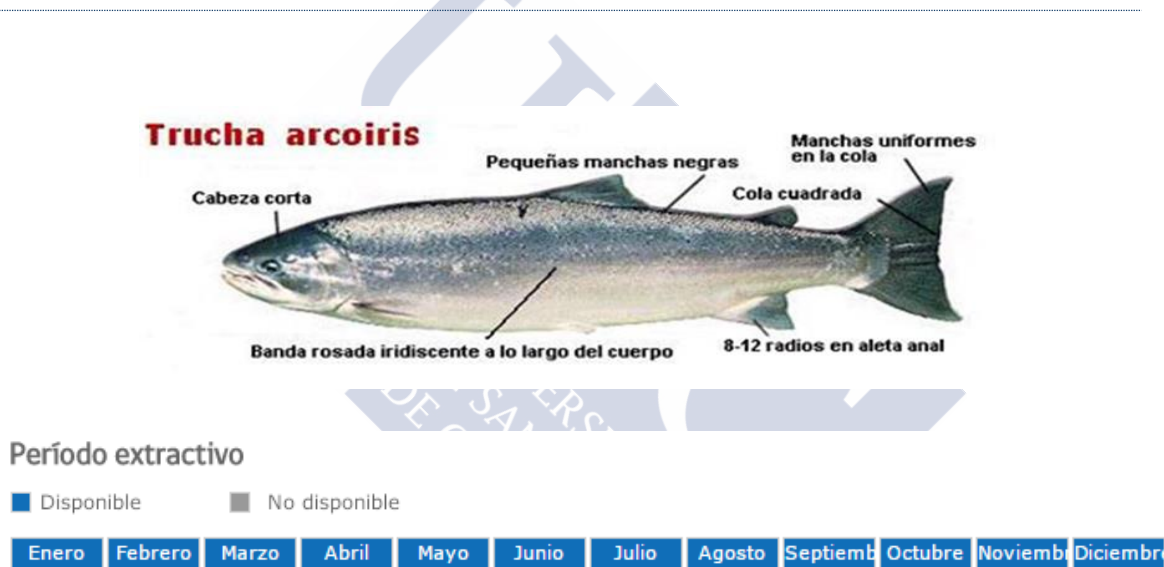
estudio se pretendió obtener la optimización del secado de salmón como función de la calidad y nivel de oxidación.

Esta parte será expone en los capítulos 4 y 5, de la PARTE 3 de la sección de Resultados y Discusión.

## 2.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO

Las especies de estudio son los salmónidos: trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y salmón del Atlántico (*Salmo salar*). A continuación se presentan las características de cada una de ellas.

### 2.4.1 TRUCHA ARCO IRIS



La trucha arco iris es un pez carnívoro de agua fría, donde existen variedades acondicionadas para vivir sólo en agua dulce y otras pueden desarrollar su vida tanto en agua dulce como salada. Las truchas se encuentran normalmente en aguas frías y limpias de ríos y lagos distribuidos a lo largo de Norteamérica, norte de Asia y Europa. Varias especies de trucha fueron introducidas en el siglo XIX en la Patagonia. También han sido introducidas en Australia y Nueva Zelanda, además de los Andes venezolanos, Ecuador y Perú, por pescadores aficionados, desplazando a los peces autóctonos.

Las aletas de las truchas carecen de espinas, y todas las especies tienen una pequeña aleta adiposa en el lomo, cerca de la cola. Las poblaciones aisladas presentan diferencias morfológicas. Sin embargo, muchos de estos grupos no muestran divergencias genéticas

significativas, por lo que los ictiólogos los consideran como simples variedades de un número de especies mucho menor. En Chile el cultivo se realiza en la zona sur del país, entre las regiones VIII y XII. Entre las especies de truchas más importantes se encuentran: la trucha marrón (*Salmo trutta*), también llamada en España “trucha común” por ser la autóctona del país, la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), la trucha dorada (*Oncorhynchus aguabonita*), la trucha degollada “Lahontan” (*Oncorhynchus clarkii henshawi*) y la trucha degollada “Bonneville” (*Oncorhynchus clarkii clarkii*).

#### 2.4.2. SALMÓN COHO



El salmón coho es un pez carnívoro de agua fría. En una primera etapa desarrolla su ciclo de vida en agua dulce, siendo posteriormente transportado al mar para su cultivo. El cultivo se realiza en la zona sur de Chile, entre las regiones IX y XII. En tierra en etapa de agua dulce y en cuerpos de agua salada para su etapa de engorde. Cultivo ampliamente desarrollado. Se produce en su mayoría en Chile entre los meses de Octubre a Marzo. Es una excelente fuente de proteínas y ácidos grasos como los de tipo omega 3. La totalidad del salmón plateado se produce en incubadoras. Los adultos maduros se obtienen tanto de bancos de producción en granjas marinas o de grupos seleccionados específicamente para su manejo como pies de cría. Las hembras son sacrificadas, se les retiran los huevos y se fertilizan con esperma de uno o más peces machos. La engorda se realiza en jaulas ancladas en el lecho marino por un período de entre 10 y 12 meses y se cosechan cuando alcanzan un peso de entre 2,5-3,5 kg. Los alimentos formulados para salmón plateado contienen varias mezclas de harina de semillas oleaginosas (ej. semilla de algodón, semilla de soya), harina y aceite de pescado,

y diversos granos (ej. trigo, maíz), complementado con vitaminas y minerales esenciales y astaxantina.

Las plantas modernas de procesamiento se apegan a estrictas medidas sanitarias y procedimientos de disposición final de residuos para prevenir la transmisión de enfermedades entre peces o la contaminación del producto con potenciales agentes

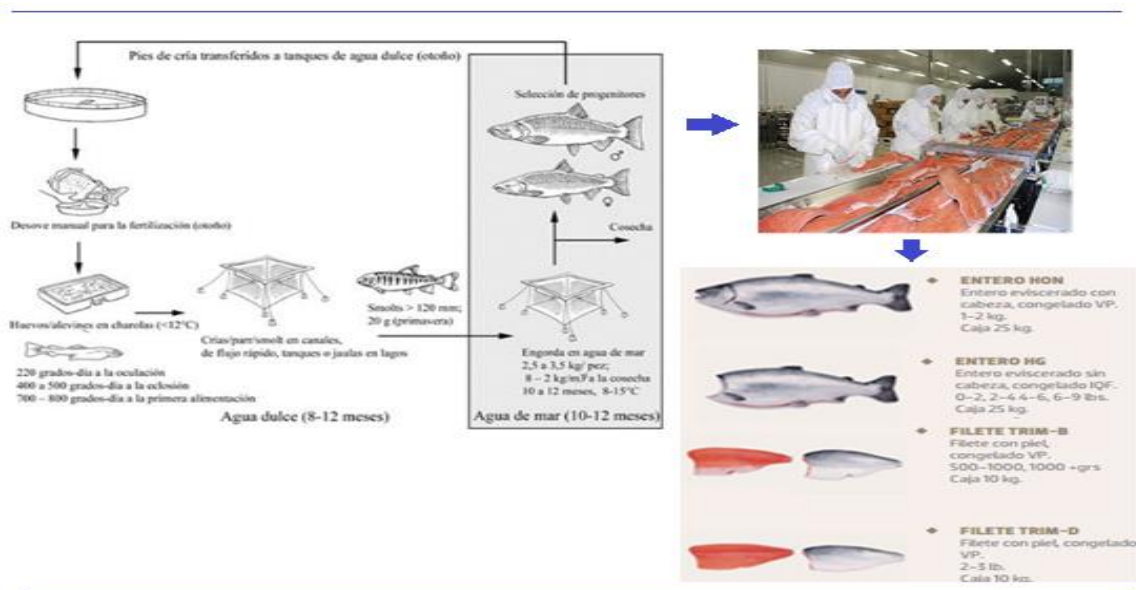


Figura 8. Ciclo de producción del salmón coho.

patógenos humanos. Los salmones se evisceran, lavan y empacan en hielo. En esta etapa del proceso, el pescado puede congelarse o filetearse. Generalmente, el producto de primera calidad se vende como salmón fresco o congelado. Los peces de menor calidad se filetean, deshuesan o ahúman.

### 2.4.3 SALMÓN ATLÁNTICO

El salmón Atlántico es un pez carnívoro de agua fría. En una primera etapa desarrolla su ciclo de vida en agua dulce, luego es transportado al mar para su cultivo. Cultivo ampliamente desarrollado que se realiza en la zona sur de Chile, entre las regiones IX y XII. El salmón se cultiva en tierra para su etapa de agua dulce y en cuerpos de agua salada para su etapa de engorde.

Los huevos son liberados y fertilizados en nidos de desove "redds" ubicados en fondos de grava aguas arriba. Los alevines eclosionados viven de sus reservas vitelinas



por aproximadamente 300 grados-días, hasta que comienzan a alimentarse como larvas. Los peces juveniles permanecen en agua dulce, alimentándose de larvas de insectos y



pequeños peces, a través de las etapas de alevín y parr por 2-5 años, hasta que experimentan la adaptación al agua de mar y se convierten en "smolts" (esmolificación, un proceso activado por cambios de fotoperíodo) y migran río abajo hasta el mar (normalmente marzo-junio), donde se dirigen a sitios de alimentación en aguas profundas. Los smolts silvestres son normalmente de unos 20-30 g; los peces en agua de mar pueden alcanzar grandes tamaños, pero típicamente tienen 8-13 kg cuando comienzan su migración para el desove. Las dietas para la crianza de salmón contienen altos niveles de aceite de pescado, el cual es convertido eficientemente por el salmón, a menudo a tasas de conversión de alimento cercanas a 1:1. Los peces son alimentados a saciedad sin sobrealimentación y la consecuente pérdida de alimento. Los métodos de cosecha varían, pero los peces generalmente son hambreados hasta por 3 días antes de la cosecha. Una vez que la temperatura de la carne alcanza aproximadamente 3 °C, los peces son clasificados y embalados en hielo. En esta etapa, los peces pueden ser congelados enteros para su venta como salmón entero congelado o como salmón entero fresco eviscerado. Sin embargo, la mayoría de los pescados son fileteados para ser comercializados como filetes de salmón fresco o apartados para ser ahumados



## 3 MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 3.1 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN APLICADOS

---

De acuerdo con las tres partes establecidas en el Plan de Trabajo, se han aplicado los siguientes métodos de conservación innovadores:

#### 3.1.1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO COMO MÉTODO DE CONSERVACIÓN

---

Para el estudio del efecto del hielo líquido complementado con ozono (OFI). El hielo líquido tradicional (FI) se preparó utilizando un equipo prototipo FLO -ICE (Kinarca SAU, Vigo, España). La composición de la mezcla binaria de FI fue 40 % de hielo y 60 % de agua, preparada a partir de agua de mar filtrada que fue estandarizada en un valor de salinidad de 3,3 ‰. La temperatura de la mezcla de FI se mantuvo en -1,5 °C. La preparación de OFI se realizó mediante la inyección de ozono en la mezcla de FI con un equipo prototipo proporcionado por Cosemar Ozono (Madrid, España), la mezcla OFI fue ajustada a un potencial redox de 700 mV (equivalentes a 0,20 mg de ozono / L). En este lote, la concentración de ozono se controló constantemente midiendo el potencial redox en la fase líquida.

Ambos sistemas de hielo líquido (FI, OFI) se utilizaran para sacrificar los salmones por inmersión en una relación de pescado en hielo determinada. Posteriormente, se mantuvo la conservación almacenando los especímenes de peces colocados en una habitación isotérmica a 0 °C, iniciándose desde ese momento el muestreo programado para el experimento.

#### 3.1.2. CONSERVACIÓN DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE DIETAS DE CULTIVO CON EXTRACTOS NATURALES

---

Para la obtención de una mejora de la conservación de salmón coho (*O. kisutch*) congelado mediante la alimentación con dietas de cultivo enriquecidas con antioxidantes naturales se formularon tres dietas (I, II y III) con apoyo de EWOS Innovación Research (Colaco, Puerto Montt, Chile).

La dieta I, incluyó un contenido relevante de antioxidantes sintéticos tanto en la harina base (etoxiquina 19 mg/Kg) y en el aceite (BHT); la dieta II proporcionó una mezcla de tocoferoles, (tanto en harina y aceite); finalmente, la dieta III combinó la presencia de tocoferoles (en la harina base) y extracto de romero (en el aceite).

La composición general de las dietas utilizadas tubo un aporte de 43 % de proteína, 29 % de grasa, 7 % de humedad, 6,5 % de cenizas, 1,3 % de fibra cruda y 13,2% de carbohidratos.

El salmón coho utilizado en este estudio fue cultivado en tres tanques diferentes. Los tanques utilizados contenían agua de mar (11,2 a 12,8 °C) previamente filtrada de arena (rango salinidad: 31,3 - 33,1 g / kg). La alimentación se realizó hasta la saciedad y se llevó a cabo durante el período de luz (fotoperiodo: 5,8 hasta 7,8 h).

La distribución de la composición lipídica inicial de los grupos de salmones utilizados expresada en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados fue de 32,5 %, 27,0 % y 40,2 %, respectivamente. Para el ensayo, los salmones fueron distribuidos en tres tanques y alimentados individualmente con una de las tres dietas de composición antioxidante diferente.

En el experimento del capítulo 2 se evaluó el efecto de las diferentes dietas en la rancidez de salmón coho congelado. Mientras, que en el capítulo 3, se evaluó el efecto de las dietas en la composición de antioxidantes endógenos (astaxantina, tocoferoles), perfil lipídico, proteínas sarcoplásmicas y color.

---

### 3.1.3. ENLATADO CON APLICACIÓN DE EXTRACTOS DE ALGAS COMO MEDIO DE COBERTURA

---

De acuerdo con los objetivos de esta investigación, cinco medios de cobertura utilizando macroalgas recolectadas directamente de la zona costera central de Chile (Algarrobo, Valparaíso, Chile) fueron preparados correspondientes a los siguientes extractos acuosos:

- Extracto acuoso de cochayuyo (CYO, fronda de *Durvillaea antartica*),
- Extracto acuoso de lechuga de mar (SLC, *Ulva lactuca*),
- Extracto acuoso de ulte (ULT, parte basal de *Durvillaea antartica*)

- Extracto acuoso de luche rojo (RLC, *Porphyra columbina*)
- El control, fue hecho con agua destilada (CTR)

Con el fin de llevar a cabo un estudio comparativo de estos medios a lo largo del tiempo de almacenamiento sobre la calidad de salmón enlatado, se comprobó su actividad antioxidante mediante la evaluación de la alteración de lípidos, componentes antioxidantes endógenos, y los parámetros sensoriales. Todos los extractos naturales se prepararon con 500 g de cada alga en 2 L de agua destilada. A continuación, las mezclas se sometieron a calentamiento (ca. 100°C) durante 3 h, posteriormente se filtraron y envasaron en botellas selladas de vidrio que fueron refrigeradas a 4 °C hasta su uso.

---

#### 3.1.4 SECADO COMO MEDIO DE PRESERVACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN ATLÁNTICO (*S. salar* L).

---

En este trabajo se estudió el efecto de la temperatura de secado en las características bioquímicas y en las propiedades físicas de salmón del Atlántico comercial.

El contenido de humedad inicial se determinó según el método oficial AOAC 934.06 (AOAC, 1990). La humedad relativa de entrada de aire y la densidad de carga fueron medidas durante el proceso. Todos los experimentos de secado se llevaron a cabo por triplicado muestreando una cantidad constante de músculo a partir de un filete entero en diferentes periodos de tiempo. La masa de filete durante el secado se midió en intervalos de tiempo definidos. Los experimentos se realizaron hasta obtenida la condición equilibrio y el peso constante de la muestra. Las muestras secas se mantuvieron en bolsas de polipropileno selladas hasta su posterior análisis.

---

#### 3.2 MATERIA PRIMA, APLICACIÓN DEL MÉTODO DE CONSERVACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.

---

Se describe a continuación el origen de la materia prima empleada, forma de aplicación del método de conservación y el proceso de toma de muestra en los distintos experimentos, que han dado lugar a los consiguientes capítulos de la presente memoria:

---

### 3.2.1 CAPÍTULO 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO COMO MÉTODO DE PRESERVACIÓN DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

---

Las muestras de la trucha arco iris (108 individuos) estandarizadas en peso y longitud (rango de peso: 0,23 hasta 0,33 kg; intervalo de longitud: 25 a 30 cm) se obtuvieron de una instalación de acuicultura (Isidro de la Cal, La Coruña, España) y se sacrificaron en la granja por inmersión ya sea en FI (54 individuos) o OFI (54 individuos). En ambos sistemas, los peces estaban rodeados por FI o OFI en una relación 1: 1 de pescado en hielo y transportados durante 2 h a 0 °C al laboratorio.

Los especímenes de peces se mantuvieron en su correspondiente medio de formación de hielo y directamente colocados en una habitación isotérmica a 0 °C. Al día siguiente (día 1), nueve muestras de cada formación de lote de hielo se tomaron para el análisis. Las muestras de cada condición se dividieron en tres grupos (tres individuos en cada grupo) que fueron analizados por separado (n = 3). Una vez que los ejemplares de peces fueron sometidos a análisis sensorial y de color instrumental, el músculo blanco se separó y se empleó para la evaluación de calidad de los lípidos (Valor de peróxidos, índice TBA, compuestos fluorescentes, etc.). A continuación, la toma de muestras de pescado continuó los días 3, 6, 9, 13 y 16 de almacenamiento refrigerado, de acuerdo con el mismo diseño de muestreo (n = 3).

---

### 3.2.2. CAPÍTULO 2. INHIBICIÓN DE LA RANCIDEZ Y RETENCIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN COHO CONGELADO CULTIVADOS CON DIETAS ADICIONADAS DE EXTRACTO DE ROMERO Y ALFA-TOCOFEROL

---

El salmón coho alimentado con dietas de composición antioxidante diferente (dieta I adicionada de etoxiquina y BHT; dieta II adicionada de mezcla de tocoferoles, y dieta III con mezcla de tocoferoles y extracto de romero) fue cosechado cuando éstos alcanzaron un peso de 2.500 g. Luego del sacrificio éstos se desangraron, se eliminaron branquias, cabeza y vísceras para finalmente mantenerlos en una mezcla de agua-hielo durante 24 horas. Posteriormente, los salmones fueron congelados a - 40 °C en bolsas de polietileno individuales, con sellado hermético. Después de 3 días, el pescado fue almacenado a - 18 °C durante 12 meses. Los muestreos para los análisis bioquímicos y sensoriales fueron realizados a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses. De esta manera, en cada tiempo

de muestreo cinco ejemplares diferentes por tanque fueron analizados independientemente ( $n = 5$ ). Para la realización de los análisis se utilizó el corte noruego estandarizado de Calidad (NQC); este corte se define como la región del pescado desde el extremo de la aleta dorsal hasta el ano. Una vez que los pescados fueron sometidos a análisis sensorial y de color instrumental, el músculo blanco se separó y se empleó para la evaluación de calidad de los lípidos (*p*-anisidina, ácidos grasos libres, dienos conjugados, índice de TBA, pardeamiento y compuestos fluorescentes). En base a estos experimentos se pudo determinar el efecto de las dietas ensayadas en la conservación de salmón y la factibilidad de reemplazar o complementar los antioxidantes sintéticos en las dietas de salmón coho, por extractos naturales. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 2 de la parte 2.

---

### 3.2.3 CAPÍTULO 3. RETENCIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE ADICIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y TOCOFEROLES EN LA DIETA DE CULTIVO

---

A partir del experimento anterior (Capítulo 2) consistente en el cultivo de salmón coho utilizando tres dietas adicionadas con diferentes antioxidantes se realizó una segunda parte experimental que comprendió la determinación del efecto de las diferentes dietas en la retención del valor nutricional del salmón y de sus antioxidantes endógenos. Una vez que los ejemplares fueron sometidos a análisis de color instrumental. El músculo blanco se separó y se empleó para la evaluación del valor nutricional, proteínas sarcoplásmicas, contenido de antioxidantes endógenos astaxantina, tocoferoles y perfil lípidico.

En base a estos experimentos se podrá determinar el efecto de las dietas ensayadas en la conservación del valor nutricional y de sus componentes esenciales de salmón y la factibilidad de reemplazar o complementar los antioxidantes sintéticos en la formulación de dietas de salmón coho, por extractos naturales.

Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 3 de la parte 2.

### 3.2.4 CAPÍTULO 4. INHIBICIÓN DE RANCIDEZ EN ENLATADOS DE CARNE DE SALMÓN ATLÁNTICO CON LÍQUIDO DE COBERTURA EN BASE A EXTRACTOS DE ALGAS

Para este estudio se utilizó salmón Atlántico (*S. salar Linnaeus*) de medida y peso definido (aproximadamente 2500 g de peso, 50 - 65 cm de longitud), el cual fue obtenido de Puerto Montt (Región de los Lagos, Chile). El día después de su captura, los peces fueron sacrificados y fileteados, eliminando branquias, vísceras y sangre bajo una mezcla de agua-hielo. A continuación, los pescados se congelaron a - 40 °C en un congelador de túnel, y envasados individualmente en bolsas de polietileno de baja densidad, incluyendo sellado hermético. Después, fueron transportados en cajas con hielo a nuestro laboratorio (Universidad de Chile, Santiago, Chile).

Las muestras de músculo de salmón fueron homogeneizadas sin piel ( $80,0 \pm 0,1$  g), se colocaron en latas esmaltadas con película epoxifenólica (211 x 108). A continuación, las latas fueron precocidas en un baño de ebullición agua durante 20 min antes de añadir 30 mL de líquido de cobertura respectivo (extractos). Se añadieron los medios de llenado a 90 °C. Las latas se sellaron en un sellador manual (Dixie Canner Co., Athens, GA, EE.UU.) y se esterilizaron en una autoclave vertical (Küster, Berlín, Alemania: 121 °C por 30 min; F0 = 6 min). Una vez esterilizadas, las latas fueron almacenadas a 40 °C en una cámara de temperatura controlada, con el fin de acelerar la aparición de cambios oxidativos en los lípidos. Las muestras de conservas de salmón fueron evaluadas para el análisis en los días 0, 8, 60, 115, y 170 de almacenamiento a 40 °C. De cada tratamiento en estudio, tres latas diferentes se analizaron independientemente en cada tiempo de muestreo (n=3).

Una vez que las muestras fueron sometidas a análisis sensorial y de color instrumental, el músculo blanco se separó y se empleó para la evaluación de calidad de los lípidos (*p*-anisidina, perfil lipídico, antioxidantes endógenos, índice TVB-N).

### 3.2.5 CAPÍTULO 5. PRESERVACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN ATLÁNTICO (*S. salar*) MEDIANTE OPTIMIZACIÓN DEL SECADO CONVENCIONAL

Para este estudio se utilizó salmón Atlántico comprado en el mercado local en la ciudad de Santiago, Chile. Para la selección de muestra se utilizaron como criterio la frescura, color, tamaño y ausencia de cualquier daño mecánico. El grosor de los filetes fue  $10,50 \pm 0,15$  mm aproximadamente. Las muestras se almacenaron a  $4,5 \pm 0,1$  °C hasta su análisis. Se utilizó como criterio de selección de las muestras la frescura, el color, el tamaño y la ausencia de cualquier daño mecánico en las muestras. Las muestras de filetes se almacenaron a  $4,5 \pm 0,1$  °C hasta su análisis.

Los filetes de salmón se secaron por convección en un secador a escala de laboratorio a diferentes temperaturas (40, 50 y 60 °C) con un flujo de aire de  $2,0 \pm 0,1$  ms<sup>-1</sup>.

Todos los experimentos de secado se llevaron a cabo por triplicado utilizando una masa de  $100,0 \pm 1,0$  g, tomada cada vez desde un filete entero. Las muestras de filete se colocaron como una en capa fina en una cesta de acero inoxidable y la masa de filete durante el secado se midió en una balanza analítica (Ohaus, SP402, Nueva Jersey, EE.UU.) con una precisión de  $\pm 0,01$  g en intervalos de tiempo definidos, conectado por un sistema de interfaz (Ohaus, RS232, Nueva Jersey, EE.UU.) a un PC, que registró y almacenó los datos. Los experimentos se realizaron hasta que se logró la condición equilibrio y se registró el peso constante de la muestra.

Las muestras secas se mantuvieron en polipropileno sellado. La cinética de secado de filetes de salmón y la influencia de secado al aire se estudió el efecto de la temperatura las características de composición y oxidación lipídica (perfil lipídico, tocoferoles, astaxantina, p-anisodina y TBA). También, se determinó la diferencia de color instrumental mediante los parámetros L\*, a\*, b\*, cambio de tono ( $\Delta E$ ), así como la variación de la firmeza (N) de muestras secas con la temperatura de secado. La oxidación de lípidos, los cambios físicos y la pérdida de humedad en las muestras, fueron relacionadas también a la eficiencia del secado.

En base a estos experimentos se podrán optimizar las condiciones de secado más favorables para la conservación de la calidad del salmón.



Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 5 de la parte 3.

### 3.3 TIPO DE ANÁLISIS DE VALORACIÓN DE LA CALIDAD REALIZADOS

---

#### 3.3.1 ANÁLISIS QUÍMICOS

---

##### 3.3.1.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS.

---

###### Extracto lipídico:

La extracción lipídica se realizó de acuerdo al método de Bligh and Dyer (1959). Para ello se pesaron 5 g de músculo blanco y se le añadieron 8 ml de metanol y 4 ml de diclorometano. Se homogeneizó dicha mezcla con un ultraturrax durante 60 segundos en frío. A continuación se le añadieron 4 ml de agua miliQ fría y 4 ml de diclorometano y se volvió a homogeneizar 60 segundos en frío. Después se centrifugó la mezcla durante 10 minutos a 3000 rpm.

Una vez centrifugada la mezcla, se observan 2 fases. La fase superior acuosa se separa y se reserva para realizar las medidas de fluorescencia. La fase orgánica se guarda y el músculo resultante es nuevamente extraído con 3 ml de metanol, 3 ml de diclorometano y 1,5 ml de agua miliQ. Se agita en vórtex y se centrifuga durante 10 minutos a 3000 rpm. Una vez centrifugada la mezcla, se observan las dos fases de nuevo. Se desecha la fase acuosa y se recoge la orgánica que se adiciona a la recogida anteriormente. A continuación, el total de fase orgánica se lava con NaCl al 0,5% en proporción 2:1, respectivamente. A la fase orgánica resultante se le añade una pequeña cantidad de sulfato sódico anhidro para secar los restos de fase acuosa que pudieran quedar. El extracto orgánico seco se recoge en un tubo graduado y se conserva a - 40°C en atmósfera de nitrógeno hasta su utilización.

###### Extracto de ácido tricloroacético (TCA):

Para la preparación de este extracto se tomaron 10 g de músculo blanco en un vaso de precipitados y se homogeneizaron con 30 ml de ácido tricloroacético al 5 % durante 45 segundos. A continuación se mantuvo la mezcla durante 10 minutos a -30



°C, se pasó a través de filtros de papel, recogiendo la fase líquida en matraces aforados de 50ml. El extracto se almacenó en congelador a -10°C hasta su utilización.

#### Extracto de ácido perclórico (PCA).

Para la preparación de este extracto se tomaron 10 g de músculo blanco en un vaso de precipitados y se homogeneizaron con 30 ml de ácido perclórico al 6% durante 45 segundos. A continuación se mantuvieron las mezclas durante 10 minutos a -30°C, se pasaron a través de filtros de papel, recogiendo la fase líquida en matraces aforados de 50ml. El extracto se almacenó en congelador a -10 C hasta su utilización.

#### **3.3.1.2 MEDICIÓN DEL PH.**

Se utilizó un pHmetro (Crison, Barcelona) provisto de un electrodo de penetración de 6mm de diámetro. Para su calibración, se emplearon disoluciones patrón de pH 4 y 7, respectivamente. La lectura del pH se efectuó mediante penetración del electrodo en el músculo de la especie marina analizada, procurando cubrir todo el electrodo.

#### **3.3.1.3 CUANTIFICACIÓN DE CONSTITUYENTES.**

##### Humedad (contenido de agua).

El contenido en agua fue determinado por diferencia entre el peso del homogeneizado fresco de músculo blanco (alícuota de 1 - 2 g) y el peso de éste después de 24h a 105 °C. Los resultados se expresaron como g agua/100g de músculo.

La determinación de la humedad en el experimento de secado (Cap. 4) las muestras de filete se colocaron en una capa fina dentro de una cesta de acero inoxidable; la masa se midió en una balanza analítica (Ohaus, SP402, Nueva Jersey, EE.UU.) con una precisión de  $\pm 0.01$  g en intervalos de tiempo definidos, conectada por un sistema de interfaz (Ohaus, RS232, Nueva Jersey, EE.UU.) a un PC, que registró y almacenó los datos. Los experimentos se realizaron hasta que se logró la condición de equilibrio y se registró el peso constante de la muestra.

### Lípidos.

A partir del extracto lipídico se hace la cuantificación lipídica por el método de Herbes y Allen (1983). Para ello se pesaron previamente cápsulas de papel de aluminio en una balanza analítica operando con 4 decimales. A continuación se añadieron 500µl de extracto lipídico en las cápsulas y se colocaron sobre una placa calefactora hasta la completa evaporación del disolvente. Una vez finalizada la evaporación se retiran las cápsulas de la placa calefactora y se colocan en un desecador con el fin de enfriarlas en ambiente seco. Una vez a temperatura ambiente, se volvieron a pesar las cápsulas para calcular la variación de peso de las mismas, obteniendo así los g lípidos /100g de músculo.

### Tocoferoles.

Su determinación se realizó según la norma Ce 8-89 (AOCS-1993) en la cual los aceites proveniente de la extracción de lípidos se disuelven en hexano HPLC para luego ser separados individualmente por cromatografía líquida de alta eficiencia y comparados con un estándar de tocoferoles comercial. El equipo utilizado fue un HPLC con detector de fluorescencia Merck Hitachi F-1050 y Bomba Merck Hitachi L-7100 y columna LiChroCart 250-4 LiChrospher Si60 (5µm). Se trabajó a un flujo de 1 mL/min con longitud de onda excitación/emisión a 290/330nm. La fase móvil estuvo compuesta por hexano e isopropanol al 0,5 % ambos grado HPLC. Se utilizó estándar de tocoferoles Merck DL-α, β, γ y δ. Los resultados se expresan en ppm. Los tocoferoles se calculan en base a la siguiente formula:

$$C_t = \frac{C \times a \times v \times fd}{A \times m}$$

C<sub>t</sub> = Contenido de Tocoferoles

C = Concentración de tocoferol estándar en µg/mL

a = Promedio de las áreas de tocoferol de la muestra

v = Volumen del matraz en que se preparó la solución en mL

fd = Factor de dilución

A = Promedio de las áreas obtenidas de tocoferol estándar

m = peso de la muestra en gramos

#### Astaxantina.

Un gramo de muestra homogenizada se coloca en tubos de vidrio con tapa de 5 mL, se agregan 3 mL de acetona y se agita en vortex por 3 min; luego se filtra con sulfato de sodio anhidro y el filtrado se recoge en un matraz de aforo de 5 mL. Para la eliminación total de acetona se aplicó nitrógeno y se aforó con hexano, para posteriormente leer la absorbancia de la solución mediante barrido (sabiendo que la lectura por espectrofotometría de este tipo de carotenos se realiza a 470 nm). La concentración se determina mediante la siguiente formula:

$$C(\mu g) = \frac{A \times y(ml) \times 10^6}{A_{1cm}^{1\%} \times 100}$$

$$C(\mu g / g) = \frac{C(\mu g)}{\text{peso de la muestra}}$$

A = Absorbancia a 470nm

y = Volumen de la solución que da una absorbancia a una longitud de onda conocida

$A_{1cm}^{1\%}$  = Coeficiente (igual a 2100 para una longitud de onda de 470nm)

#### Contenido total de polifenoles.

Se midió el contenido total de polifenoles en algas deshidratadas mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (espectrofotómetro Cary 3E UV-Visible, Varian; Mulgrave, Victoria, Australia) de acuerdo con Rodríguez-Bernaldo de Quirós y col., (2010). El ácido gálico (GA) se utilizó como estándar. Las mediciones se realizaron por triplicado. El contenido total de polifenoles se muestra en mg EAG /g alga.

### **3.3.1.4 ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN LIPÍDICA.**

#### Ácidos grasos libres (FFA - hidrólisis de lípidos).

Los ácidos grasos libres (FFA) fueron determinados por el método de Lowry y Tinsley (1976) basado en la formación de un complejo coloreado entre el grupo ácido

del ácido graso y el acetato cúprico en presencia de piridina. Para ello se llevó a evaporación con corriente de nitrógeno una alícuota del extracto lipídico y a continuación se le adicionaron 5ml de tolueno y 1 ml de acetato cúprico al 5 % a pH de 6,1 estabilizado con piridina. Se llevó la mezcla a agitación con vórtex durante 1 minuto y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Una vez centrifugado se mide la absorbancia de la fase orgánica en el espectrofotómetro a 715nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con ácido oleico. El resultado se expresó en g ácidos grasos libres/ 100g de lípidos.

#### Peróxidos (PV - oxidación primaria de lípidos).

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS (1996), Official Method Cd 8-53, el cual determina por yodometría los hidroperóxidos formados en el aceite. Los resultados se expresan en meq oxígeno activo/kg de materia grasa y se determinan mediante la fórmula:

$$I.P. = \frac{V \times N \times 1000}{M}$$

Donde:

V = Volumen en mL de la solución de tiosulfato 0,01N gastado

N = Normalidad de la solución de tiosulfato

M = masa en g de aceite usado

#### Anisidina

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS (1993), Official Method Cd18-90. Este método determina el contenido de aldehídos (principalmente 2-alquenoales y 2,4-dienales) en grasas de origen animal y vegetal, por la reacción en una disolución de ácido acético de los compuestos aldehídicos en aceites y la p-anisidina. En una primera etapa se toma entre 0,5 – 4,0 g de aceite, que es diluido volumétricamente a 25 mL con isooctano y se mide la absorbancia (Ab) a 350 nm; de esta disolución se toman en duplicado 5 mL y se transfieren a tubos de vidrio con tapa y se le agregan 1 mL de p-anisidina y se agita; después de 10 min se lee la absorbancia (As) a 350 nm contra un

blanco que contiene 5 mL de isooctano y 1 mL de p-anisidina. El valor de anisidina se obtiene por la siguiente formula:

$$p.A.V. = \frac{25 \times (1.2A_s - A_b)}{m}$$

Donde:

As = Absorbancia de la solución después de la reacción con p-anisidina

Ab = Absorbancia de la solución grasa

m = Peso de la muestra

#### Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA-i - oxidación secundaria de lípidos).

Este análisis fue realizado de acuerdo al método de Vyncke (1970) para la determinación de sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico (TBA-i). Para ello se toma una alícuota del extracto de tricloroacético (TCA) y se le añaden 5 ml de una disolución de ácido tiobarbitúrico 0,02 M. Se hace una agitación suave y la mezcla se mantiene 40 minutos en un baño de agua a 97 °C. A continuación, la muestra se agita, enfría y centrifuga durante 15 minutos a 2700 rpm. Finalmente, se mide la absorbancia a 532 nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con tetraetoxipropano. Se calcula el índice de TBA como mg malondialdehído/Kg de músculo.

#### Formación de compuestos fluorescentes (FR- oxidación terciaria de lípidos)

La formación de compuestos fluorescentes fue determinada con el fluorímetro Perkin-Elmer LS 3B mediante medidas a 393/463 nm y 327/415 nm descrito por Aubourg y col. (1997) y Aubourg y col. (1999). La fluorescencia relativa (RF) fue calculada de acuerdo con la fórmula:  $RF = F/F_{st}$ , donde F es la fluorescencia medida en un par excitación/emisión, y  $F_{st}$  es la intensidad de fluorescencia de una disolución de sulfato de quinina (1 µg/ml en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 M) en el mismo par. La relación de fluorescencia (FR) fue calculada como la relación entre los dos valores relativos:  $FR = RF_{393/463 \text{ nm}}/RF_{327/415 \text{ nm}}$ . El valor de FR fue determinado en las fases acuosa y orgánica resultantes de la extracción lipídica.

### Índice de polienos (PI)

Los extractos lipídicos fueron transmetilados mediante el método de Lepage y Roy (1986). Para ello una alícuota del extracto lipídico, correspondiente a 200 µg de lípidos, se llevó a sequedad con nitrógeno gaseoso y se añadieron 0,4 ml de tolueno, 0,1 ml de patrón interno (C 19:0; 0,1 mg/ml) y 2,0 ml de ácido sulfúrico al 1% en metanol. Las muestras se mezclaron mediante agitación intensa con vórtex durante 30 s y se incubaron a 50 °C durante aproximadamente 12h. Una vez atemperadas las muestras, se añadieron 5 ml de una disolución acuosa de cloruro de sodio al 5 %, y las muestras se mezclaron por agitación intensa durante 30 s. La adición de la disolución de cloruro sódico y la centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos permitieron la separación de fases de tolueno y metanol/agua. La fase orgánica fue lavada con una disolución acuosa salina (5% NaCl) y secada con sulfato sódico anhidro. Para el análisis de los ácidos grasos se inyectó 1µl de la fase de tolueno, situada en la parte superior en el equipo GC-FID.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron por cromatografía de gases (Perkin-Elmer modelo 8700), provisto de un inyector de vaporización de temperatura programada (PTV) y un detector de ionización de llama (FID), empleando una columna capilar SP-2330 (0.25mm d.i. x 30m, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). Se utilizó nitrógeno como gas portador. Los picos fueron identificados por comparación de sus tiempos de retención con los de mezclas estándares (Larodan, Qualmix Fish; Supelco, FAME Mix). Los picos fueron integrados de forma automática y se empleó el ácido 19:0 como patrón interno. El índice de polienos fue calculado como la siguiente relación de concentraciones de ácidos grasos:  $C_{20:5\omega3} + C_{22:6\omega3} / C_{16:0}$  (Lubis and Bucle, 1990).

### **3.3.1.5 ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE LA FRACCIÓN DE NITRÓGENO NO PROTEICO.**

#### Bases volátiles totales (N- TVB)

Fueron determinadas de acuerdo al método de Antonacopoulos (1960) con ligeras modificaciones posteriores (Aubourg y col., 1997). Para ello se tomaron entre 5 y 10 ml del extracto de ácido perclórico al 6 % que se colocan en un matraz de destilación con 6,5 ml de hidróxido sódico al 20 %. Se procedió a su destilación mediante arrastre de vapor, recogiendo el destilado en un vaso de precipitados conteniendo 5 ml de

indicador Shiro Tashiro diluido (200 ml de ácido bórico al 4 % + 2 ml de Shiro Tashiro concentrado, preparado el mismo día del análisis y en oscuridad). El indicador Shiro Tashiro se preparó disolviendo 0,125 g de rojo de metileno en 10 ml de una disolución de NaOH al 20% y se le adicionó 0,02 g de azul de metileno en 90 ml de agua destilada. Transcurridos 10 minutos de destilación, el destilado se valora con ácido clorhídrico al 0,01N. El resultado final se expresa en mg de nitrógeno incluido en las bases volátiles totales TVB-N/ 100 g de músculo.

### 3.3.2 ANÁLISIS SENSORIAL

Se llevó a cabo siguiendo distintos tipos de procedimiento.

En el Capítulo 1 se llevó a cabo por un panel sensorial formado por jueces experimentados, de acuerdo con las directrices relativas a pescado fresco y refrigerado (Tabla 6) basándose en los REGLAMENTOS DEL CONSEJO EUROPEO de 1989 que establece normas comunes de comercialización para determinados productos pesqueros, y que muestra los baremos de clasificación específicos por tipos de productos pesqueros para la definición del grado de frescura. Cuatro categorías se clasificaron: máxima calidad (E), calidad buena (A), calidad aceptable (B) y calidad inaceptable (C). Los panelistas incluidos en este estudio habían participado en el análisis sensorial de diferentes especies de peces durante 10 años. Anteriormente a la presente experimento, los panelistas fueron especialmente entrenados con trucha arco iris fría.

**Tabla 6. Escala empleada para la evaluación de la frescura de trucha arco iris.**

Attribute	Highest quality (E)	Good quality (A)	Fair quality (B)	Unacceptable (C)
Skin	Very intense pigmentation; transparent mucus	Milky mucus; insignificant pigmentation losses	Slightly greyish mucus; pigmentation without shine	Widely opaque mucus; important pigmentation losses
Eyes	Convex; transparent cornea; bright and black pupil	Convex and slightly sunken; slightly opalescent cornea; black and cloudy pupil	Flat; opalescent cornea; opaque pupil	Concave and milky cornea; internal organs blurred
External odour	Sharply seaweedy and shellfish smell	Weakly seaweedy and shellfish smell	Incipiently putrid or rancid	Putrid or rancid
Gills	Brightly red; without odour; lamina perfectly separated	Rose coloured; without odour; lamina adhered in groups	Slightly pale; incipient fishy odour; lamina adhered in groups	Grey-yellowish colour; intense ammonia odour; lamina totally adhered
Consistency	Presence or partial disappearance of rigor mortis symptoms	Firm and elastic; pressure signs disappear immediately and completely	Presence of mechanical signs; elasticity notably reduced	Important shape changes due to mechanical factors

La evaluación sensorial del pescado incluyó el examen de los siguientes parámetros: piel, ojos, olor externo, branquias y consistencia. En cada tiempo de muestreo, las muestras



de pescado eran presentadas a los panelistas y evaluadas individualmente. Los miembros del panel compartieron las muestras analizadas.

En los Capítulos 2 y 3 el análisis sensorial de sabor rancio se realizó de acuerdo al método de análisis descriptivo de calidad (QDA) por un panel sensorial constituido por diez jueces con experiencia (cinco mujeres y cinco hombres). Los panelistas fueron seleccionados y entrenados de acuerdo a las Normas Internacionales (ISO, 1991) en el uso de los descriptores sensoriales de salmón descongelado y cocido de diferentes condiciones de calidad.

En cada tiempo de muestreo, se descongelaron las muestras de pescado y luego cocieron en bolsas de polietileno en un baño de agua. Las porciones del músculo de pescado fueron presentadas a los panelistas en bandejas individuales y fueron marcadas individualmente. Los miembros del panel compartieron las muestras analizadas.

El sabor a rancio se evaluó en una escala lineal no estructurada con puntuaciones numéricas de 0 a 10. Puntaje 0 ausencia total de rancidez, mientras que el puntaje 10 corresponde a la etapa en la que el aumento de la rancidez no es posible; el puntaje 5,0 se consideró la frontera de aceptabilidad de pescado. Las puntuaciones entre los panelistas fueron promediadas.

En el Capítulo 4, los parámetros "olor rancio" y "sabor característico" fueron evaluados por un panel sensorial entrenado constituido por diez asesores (cinco hombres y cinco mujeres) de acuerdo con una modificación del método descrito por Green-Petersen y col. (2006). Los panelistas habían participado en el análisis sensorial de diferentes tipos de alimentos pesqueros. En cada tiempo de muestreo, se presentaron porciones musculares de pescado fueron presentadas a los panelistas en bandejas y se puntuaron de forma individual. Se evaluaron los parámetros en una escala lineal no estructurada con puntuaciones numéricas de 0 a 10, donde 0 representa la puntuación correspondiente al estado de ausencia total de dicho parámetro, mientras que el puntaje 10 corresponde a la etapa en la que el aumento de la rancidez no es posible; un valor 5,0 se consideró la frontera aceptabilidad de pescado. Las puntuaciones entre los panelistas fueron promediadas.



---

### 3.3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

---

#### Resultados bioquímicos

Al objeto de realizar el análisis estadístico, cada tratamiento tecnológico en cada experimento fue llevado a cabo al menos por triplicado ( $n=3$ ).

Los datos correspondientes a las dos condiciones de formación de hielo (FI y OFI; Cap. 1) se sometieron a un análisis de varianza para evaluar las posibles diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos (Statsoft, 1994); el efecto del tiempo de almacenamiento en refrigeración también se analizó ( $p < 0,05$ ). El software SPSS 11,5 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.) fue también utilizado para explorar la significancia estadística de los resultados obtenidos, incluyendo contrastes multivariados y comparaciones múltiples por las pruebas de Scheffé y Tuckey; se aplicó un intervalo de confianza en el nivel de 95 % en todos los casos.

Igual método fue aplicado para el caso del estudio del efecto de dietas con extractos antioxidantes naturales y sintéticos y el tiempo de almacenamiento congelado sobre la rancidez de salmón coho (Cap. 2), y del experimento del enlatado con extractos de algas como medio de cobertura (Cap. 4). Exceptuando la evaluación del efecto del tipo de dieta y el tiempo de conservación en la composición de salmón coho que evaluó diferencias significativas en base a un análisis ANOVA de dos vías (Cap. 3) y el test de rango múltiple para grupos homogéneos aplicado en la optimización del secado de salmón Atlántico (Cap. 5).

#### Resultados sensoriales

Los descriptores " sabor característico " y "olor rancio " fueron evaluados de acuerdo con una modificación del método descrito por Green-Petersen y col. (2006). Se evaluaron los parámetros en una escala lineal no estructurada con puntuaciones numéricas de 0 a 10, donde 0 representa la puntuación para el estado de ausencia total del descriptor, mientras que la puntuación 10 corresponde a la etapa en la que ya no es posible un aumento en el parámetro correspondiente. Las puntuaciones entre los panelistas se promediaron. Bajo el mismo procedimiento se evaluó cuatro categorías: calidad más alta (E), buena calidad (A), calidad razonable (B) y la calidad inaceptable (C) según la norma europea (Council Regulation, 1989

#### 4.6 BIBLIOGRAFÍA.

---

**Antonacopoulos, N.**, Verbesserte Apparatus zur quantitativen Destillation wasserdampfllüchtiger Stoffe. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1960, 13, 113-160.

**Green-Petersen, D. M. B.**, Nielsen, J., Hyldig, G., Sensory profiles of the most common salmon products on the Danish market. J. Sens. Stud. 2006, 21, 415–427.

**Statsoft.** Statistica for Macintosh. Statsoft and its licensors, Tulsa, OK (USA) 1994.

**Aubourg, S., Medina, I., J** Gallardo: Quality assessment of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) during chilled storage by monitoring lipid damages. J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 3662–3666.

**Aubourg, S.** Review: recent advances in assessment of marine lipid oxidation by using fluorescence. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1999, 76, 409-419.

**Aubourg, S.**, Piñeiro, C., Gallardo, J., Barros-Velázquez, J. Biochemical changes and quality loss during chilled storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). Food Chem. 2005, 90, 445-452.

**Aubourg, S.**, Losada, V., Gallardo, J., Miranda, M., Barros-Velázquez, J. On-board quality preservation of megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) by a novel ozonised-slurry ice system. Eur. Food Res. Technol. 2006, 223, 232-237.

**Aubourg, S.**, Losada, V., Prado, M., Miranda, J., Barros-Velázquez, J., Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with an antimelanotic agent on enzymatic browning. Food Chem. 2007, 103, 741-748.

**Ben-Gigirey, B.**, Vieites Baptista de Sousa, J., Villa, T., & Barros-Velázquez, J. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. Journal of Food Protection. 1998, 61, 608-615.

**Ben-Gigirey, B.**, Vieites Baptista de Sousa, J., Villa, T., & Barros-Velázquez, J. Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*). Journal of Food Protection. 1999, 62, 933-939.

**Ben-Gigirey, B.**, Vieites Baptista de Sousa, J., Villa, T., & Barros-Velázquez, J. Characterization of biogenic amine-producing *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from white muscle of fresh and frozen albacore tuna. International Journal of Food Microbiology. 2000, 57, 19-31.

**Bligh, E., Dyer, W.**, A rapid method of total extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 1959, 37, 911–917.

**Chapman, R.**, McKay, J., The estimation of peroxides by the ferric thiocyanate method. J. Am. Oil Chem. Soc. 1949, 26, 360–363.

**Council Regulations (1989)** Baremo de Clasificación de Frescura. In: Diario Oficial de las Comunidades Europeas. Pp. 5-6. Brussels, Belgium: European Commission

**Council Regulation. (1990).** Official Journal of the European Communities, 19, 69. February, No C84.

- Council Regulations**, (1996). European community, No 2406/96, 26 November 1996. Off. J. Eur. Commun. L-334, 2:23.12.
- Giese, J.**, Antioxidants: Tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol.* 1996, 50, 73–80.
- Green-Petersen, D. M. B.**, Nielsen, J., Hyldig, G., Sensory profiles of the most common salmon products on the Danish market. *J. Sens. Stud.* 2006, 21, 415–427.
- Losada, V.**, Barros-Velázquez, J., Gallardo, J., Aubourg, S., 528 Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2004, 106, 844-850.
- Lowry, R.**, Tinsley, I., Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1976, 53, 470–472.
- Madrid, A.**, Madrid, J., & Madrid, R. Chilling, freezing and ultra-freezing of fish and derivatives. In A. Madrid (Ed.), *Technology of fish and its derivatives*. 1994, (pp. 45-103). Madrid, Spain: AMV Ediciones y Mundi-Prensa Libros, S. A.
- Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A.**, Frecha-Ferreiro, S., Vidal-Perez, A. & Lopez-Hernandez, J. Antioxidant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research Technology*. 2010, 231, 495-498.
- Ruiz-Capillas, C.**, & Moral, A. Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Research International*. 2001, 34, 441-447.
- Torres, A., Vázquez, M., Saraiva, J.**, Gallardo, J., Aubourg, S., Lipid damage inhibition by previous high pressure processing in white muscle of frozen horse mackerel. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2013, 115, 1454-1461.
- Tozawa, H.**, Erokibara, K., & Amano, K. Proposed modification of Dyer's method for trimethylamine determination in codfish. In R. Kreuzer (Ed.), *Fish inspection and quality control*. 1971 (pp. 187-190). London, UK: Fishing News Books Ltd.
- Vyncke, W.** Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*. 1970 72, 1084-1087
- Losada-Iglesias, Vanesa.** Aplicación de técnicas basadas en hielo líquido en la comercialización de productos marinos: Efectos sobre los cambios químicos relacionados con la pérdida de calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo: Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, 2006.
- Sanjuás-Rey, Minia.** Aplicación de sistemas avanzados para la mejora de la calidad de productos marinos refrigerados de interés comercial. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago: Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, 2012



## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En el presente estudio los resultados y la discusión se presentan en tres partes, en función de los métodos de conservación usados. Dentro de cada parte se muestran las distintas publicaciones realizadas al respecto. Así tenemos la siguiente división:

### PARTE 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO

---

**Capítulo 1.** APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO COMO MÉTODO DE PRESERVACIÓN DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

### PARTE 2. CONSERVACIÓN DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE EL DESARROLLO DE FORMULACIONES DE DIETAS DE CULTIVO ADICIONADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES ALTERNATIVOS AL USO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS.

---

**Capítulo 2.** INHIBICIÓN DE LA RANCIDEZ DE SALMÓN COHO CONGELADO CULTIVADOS CON DIETAS ADICIONADAS DE EXTRACTO DE ROMERO Y ALFA-TOCOFEROL

**Capítulo 3.** MANTENCIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE ADICIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y TOCOFEROLES EN LA DIETA DE CULTIVO.

### PARTE 3. CONSERVACIÓN DE SALMÓN ATLÁNTICO A ALTAS TEMPERATURAS: ENLATADO CON APLICACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES Y OPTIMIZACIÓN DE SECADO CONVECCIONAL.

---

**Capítulo 4.** INHIBICIÓN DE RANCIDEZ EN ENLATADOS DE CARNE DE SALMÓN ATLÁNTICO CON LÍQUIDO DE COBERTURA EN BASE A EXTRACTOS DE ALGAS

**Capítulo 5.** PRESERVACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN ATLÁNTICO (*S. salar*) MEDIANTE OPTIMIZACIÓN DEL SECADO CONVENCIONAL



#### 4.1. PARTE 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO







#### **4.1.1 ANEXO 1. CAPITULO 1**

**Título:** Lipid damage in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after slaughtering and chilled storage.

**Autores:** Jaime Ortiz, Óscar Palma, Natalia González, and Santiago P. Aubourg.

**Revista:** European Journal of Lipid Science and Technology.

**Año:** 2008, Volumen, 110, pág.1127 – 1135

**Índice de impacto** 1.812, Cuartil Segundo

**Editorial:** Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

[www.ejlst/](http://www.ejlst/) DOI 10.1002/ejlt.200800131







---

#### 4.1.2 CAPÍTULO 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO COMO MÉTODO DE PRESERVACIÓN DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) (ANEXO 1)

---

##### 4.1.2.1 INTRODUCCIÓN.

---

Este trabajo incluye un estudio comparativo de conservación en refrigeración de trucha arco iris en hielo líquido (FI) y en hielo líquido complementado con ozono (OFI). Los análisis realizados incluyeron la oxidación y la hidrólisis lipídica en diferentes periodos de conservación durante 16 días, como forma de determinar el efecto preservante de los sistemas FI y OFI. Además, se llevó a cabo la comparación con la aceptación sensorial y los cambios de color instrumentales.

##### 4.1.2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

---

###### 4.1.2.2.1 Análisis Químico

La trucha arco iris refrigerada bajo las condiciones FI y OFI presentó un bajo desarrollo de daños en los lípidos, de acuerdo con los eventos de oxidación y de hidrólisis determinados. Igualmente, los cambios en la composición de los lípidos (ácidos grasos poliinsaturados, fosfolípidos y antioxidantes endógenos) fueron menores. El contenido de lípidos fue similar al establecido para la misma especie en condiciones silvestres (Blanchet y col., 2005) pero menor al informado por otros autores para la especie cultivada (Sheehan y col., 1998; Blanchet y col., 2005; Chen y col., 2007; Kolakowska y col., 2006a).

Por otro lado, se obtuvo un mayor contenido de humedad que en investigaciones anteriores con trucha arco iris de cultivo (Chen y col., 2007; Kolakowska y col., 2006a; Kolakowska y col., 2006b). Además, se observó un creciente contenido de NaCl durante todo el experimento para ambas condiciones de formación de hielo. Este aumento puede explicarse como resultado de la presencia de NaCl en los sistemas de refrigeración empleados, y está de acuerdo con investigaciones anteriores en relación con las especies silvestres mantenidas bajo condiciones de FI (Losada y col., 2004; Losada y col., 2005).

Por otro lado, la alteración de los AGPI se midió siguiendo el PI de los lípidos en el músculo blanco. Este parámetro no mostró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), como resultado del sistema de formación de hielo, ni como resultado del tiempo de formación de hielo. Los resultados obtenidos (rango PI: 2,6 a 2,9) fueron marcadamente superiores a los efectos de la dieta informados en estudios anteriores (Kolakowska y col., 2006a; Blanchet y col., 2005; Chen y col., 2007). Investigaciones anteriores han demostrado que la mayoría de los peces de agua dulce silvestre tienen un contenido menor de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que los correspondientes a especies marinas silvestres (Pearson y col., 1977). Sin embargo, los resultados presentes coinciden con los obtenidos para otras especies marinas (Aubourg, 1996), lo que sería a causa del efecto de la dieta proporcionada (Blanchet y col., 2005; Chen y col., 2007).

Los resultados obtenidos en relación con el contenido total de fosfolípidos (PL) oscilaron entre 30 y 39 g / 100 g de lípidos y no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) como resultado del tipo de sistema de formación de hielo empleado, ni como resultado del tiempo de formación de hielo. En estudios previos se ha observado que la proporción de PL en los lípidos se presenta en una relación inversa con el contenido total de lípidos; en este sentido, el contenido obtenido para los PL se correlacionó con el bajo contenido de lípidos de las especies (Aubourg y col., 1996; Pearson y col., 1977). Además, se encontró que el contenido en PL fue marcadamente superiores que los reportados para la misma especie de cultivo (Kolakowska y col., 2006a).

Los tocoferoles y carotenoides como la AX se conocen como antioxidantes endógenos que pueden actuar como eliminadores de los radicales libres, por lo que la protección contra la oxidación lipídica debería estar favorecida y, en consecuencia, el contenido y la composición de AGPI mantenidos como resultado de su presencia (Jensen y col., 1998; Kamal-Eldin y col., 1996).

Los valores para AX,  $\alpha$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol y  $\delta$ -tocoferol no proporcionaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) como resultado del sistema de formación de hielo empleado, ni como resultado del tiempo de formación de hielo. Las variaciones de contenido entre las muestras pueden explicarse como resultado de las diferencias entre individuos.

En Investigaciones anteriores en que la trucha arco iris fue almacenada en condiciones de refrigeración, se determinó que los contenidos en AX (Gobantes y col. 1998) y  $\alpha$ -tocoferol (Chen y col., 2007) descendieron parcialmente con el aumento del daño de pescado y el aumento del tiempo de almacenamiento. No obstante, dado que en el estudio presente no se reflejó una tendencia de disminución de contenido para cualquiera de las moléculas antioxidantes, se concluye que los sistemas FI y OFI proporcionan condiciones satisfactorias para la estabilidad a la oxidación de los lípidos en condiciones de sacrificio y refrigeración de la trucha arco iris.

### Hidrólisis de lípidos

El contenido de ácidos grasos libres en el músculo de trucha arco iris presentó un aumento ( $p < 0.05$ ) para ambas condiciones de formación de hielo después de 3 días de conservación. Se obtuvieron valores medios más altos para los individuos mantenidos en condiciones OFI en comparación con sus homólogos bajo FI, siendo esta diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) en el día 9. En un trabajo previo (Campos y col., 2006), se observó una formación menor de FFA en el rodaballo enfriado bajo condiciones de OFI en comparación con su contraparte bajo el tratamiento FI. Sin embargo, este resultado se obtuvo únicamente después de 35 días de almacenamiento refrigerado por lo que no se pudo obtener un diferencial FI / OFI a nivel de sacrificio. La formación de FFA durante la primera etapa del proceso de enfriamiento (hasta 6-9 días, aproximadamente) ha sido descrita como resultado de la actividad de enzimas endógenas (a saber, lipasas y fosfolipasas) (Whittle y col., 1980; Sikorski y col., 2000). Después de este tiempo, la actividad microbiana debe ser importante, por lo que la formación de FFA debe principalmente ocurrir como resultado de la actividad bacteriana. Los resultados presentes en formación de FFA muestran valores por debajo de 1% en todos los casos, por lo que pueden ser considerados como inferiores a los obtenidos para la mayoría de especies marinas magras cuando se mantienen en condiciones refrigeradas (Losada y col., 2004; Aubourg y col., 1998).

Además, se pudo observar una formación superior de FFA durante el almacenamiento refrigerado en las mismas especies cultivadas (Kolakowska y col., 2006b). En el presente estudio, ambas condiciones de formación de hielo provocaron

en gran medida una buena calidad y mayores tiempos de vida útil, así como la ausencia de cambios en las propiedades de color.

### **Oxidación de lípidos**

La formación de peróxidos fue muy baja en todos los casos (intervalo de PV: 1,0 - 4,0), similar a los resultados obtenidos mediante la aplicación de FI a especies de pescado magras (Losada y col., 2004a) y más baja que la observada para una especie magra conservada en hielo tradicional en escamas (Aubourg y col., 1998). En el presente trabajo, no se pudo observar una tendencia clara con el tiempo para los individuos tratados en ambas condiciones de hielo ( $p < 0.05$ ); únicamente se podrían mencionar algunas pequeñas diferencias, sin que se pueda llegar a alguna conclusión en relación al efecto de la presencia de ozono; este resultado coincide con un trabajo previo llevado a cabo en rodaballo cultivado (Campos y col., 2006). Los bajos valores obtenidos en el presente experimento para el índice de peróxidos están de acuerdo con la retención del contenido de AX, y se explicarían sobre la base del papel antirradicalario de este compuesto carotenoide en las primeras etapas de la oxidación de lípidos (Jensen y col., 1998).

### **Análisis sensorial**

Se presentaron descensos progresivos en las puntuaciones para las muestras de ambos tratamientos durante todo el experimento. Sin embargo, la buena calidad (valores E y A) se mantuvo en todos los individuos hasta al día 6 de conservación, lo cual puede ser considerado como un resultado comercial rentable. Las diferencias entre estos resultados y otros anteriores sobre la misma especie en condiciones de refrigeración podrían ser explicadas como resultado de factores biológicos de los individuos empleados en los diferentes estudios, tales como el tamaño y el contenido de lípidos (Rodríguez y col., 1999; Kolakowska y col., 2006a)

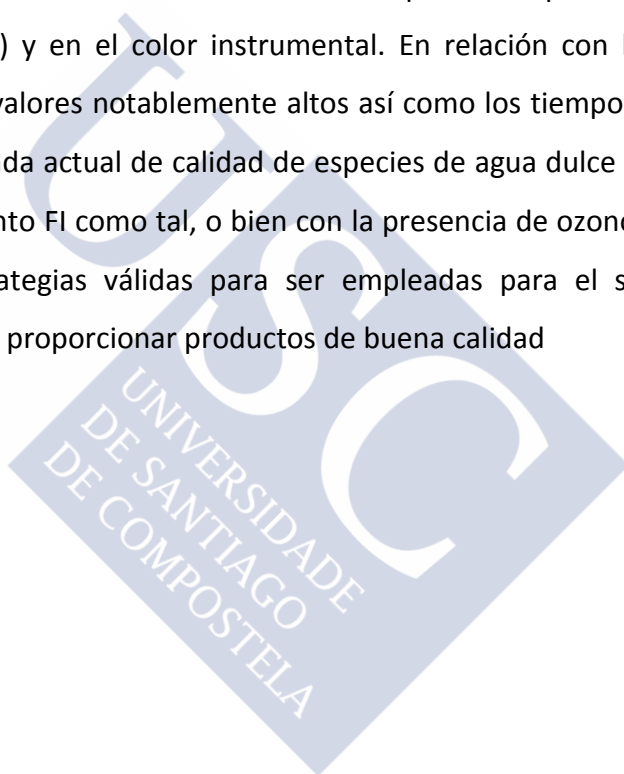
Las muestras de pescado sacrificado y refrigerado en condiciones FI mostraron un tiempo de vida útil de 13 días, mientras que su contraparte de individuos tratados con el sistema de OFI era todavía aceptable al final del experimento, estando todos los parámetros en la calificación B.

### Color instrumental

Los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , no mostraron cambios significativos ( $p>0.05$ ) en ninguno de los tratamientos aplicados.

### Conclusiones

La trucha arco iris sacrificada y conservada en refrigeración bajo las condiciones FI y OFI demostró una composición lipídica relativamente estable, de manera que el desarrollo de la oxidación lipídica fue bajo, reteniéndose la calidad sensorial en alto grado. Así, el desarrollo de la hidrólisis y oxidación lipídicas fue bajo, lo cual se vio acompañado por la ausencia de cambios en la composición lipídica (AGPI, PL y antioxidantes endógenos) y en el color instrumental. En relación con la aceptación sensorial, se obtuvieron valores notablemente altos así como los tiempos de vida útil. De acuerdo con la demanda actual de calidad de especies de agua dulce cultivadas, se concluye que el tratamiento FI como tal, o bien con la presencia de ozono, pueden ser considerados como estrategias válidas para ser empleadas para el sacrificio y la conservación al objeto de proporcionar productos de buena calidad







**4.2 PARTE 2. CONSERVACIÓN DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE  
EL DESARROLLO DE FORMULACIONES DE DIETAS DE CULTIVO  
ADICIONADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES  
ALTERNATIVOS AL USO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICO**





#### 4.2.1 ANEXO 2. CAPITULO 2

**Título:** Rancidity development during the frozen storage of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of antioxidant composition supplied in the diet.

**Autores:** Jaime Ortiz, M<sup>a</sup>. Angelica Larraín, Juan P. Vivanco, and Santiago P. Aubourg.

**Revista:** Food Chemistry.

**Año:** 2009, Volumen; 115, pág. 143 – 148

**Índice de impacto:** 3.391, Cuartil Primero

**Editorial:** Elsevier

**[www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)**

**[doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.076](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.076)**





---

## 4.2.2 CAPÍTULO 2. INHIBICIÓN DE LA RANCIDEZ DE SALMÓN COHO CONGELADO CULTIVADOS CON DIETAS ADICIONADAS DE EXTRACTO DE ROMERO Y ALFA-TOCOFEROL (ANEXO 2)

---

### 4.2.2.1 INTRODUCCIÓN.

---

Este trabajo incluye un estudio de la formulación de una dieta comercial con antioxidantes sintéticos (dieta I: BHT y etoxiquina) que fue proporcionada a salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) en paralelo con dos dietas que incluyen antioxidantes naturales (dieta II, mezcla rica en tocoferoles; dieta III, mezcla de tocoferoles-extracto de romero). Se realizó el estudio comparativo del desarrollo de la alteración lipídica (hidrólisis y oxidación) en los correspondientes productos congelados (-18 °C) a lo largo de un periodo de conservación de 18 meses.

### 4.2.2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

---

#### **Evaluación de la hidrólisis de lípidos**

Los resultados para el contenido de ácidos grasos libres (FFA) indicaron que el contenido de estos aumentó ( $p < 0,05$ ) en todo tipo de tratamientos a lo largo del periodo de almacenamiento congelado, lo que indica que la actividad enzimática hidrolítica continuó bajo las condiciones de baja temperatura. Además, se observó una buena correlación lineal del contenido de FFA con el tiempo de almacenamiento para todos los individuos de las tres condiciones de alimentación. Este comportamiento difiere de otros experimentos de conservación de pescado en congelación, donde se obtuvo un ajuste de tipo logarítmico (Aubourg y col., 2005a; Aubourg y col., 1998; Rodríguez y col., 2007); en dichos estudios se explica la rápida hidrólisis lipídica en las primeras fases de la conservación (0-3 meses) como consecuencia de una acción efectiva de las lipasas principalmente dada por una mayor proximidad al sustrato (Sikorski y Kolakowski, 2000).

Las comparaciones entre los individuos correspondientes a diferentes dietas provocaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), aunque se pudieron observar algunos valores medios más altos en la dieta II para el último período del experimento (12-18 meses). El efecto de la composición de antioxidantes de las dietas en el desarrollo de la

hidrólisis de lípidos desarrollado en el producto congelado no está claro. De acuerdo con investigaciones previas (Rodríguez y col., 2007), el contenido de lípidos del músculo blanco en el presente estudio fue en el rango de 33,5 - 47,5 g/kg. A pesar de la relación inversa conocida entre los contenidos en lípidos totales y FFA (Pearson y col., 1977), se pudo encontrar un contenido relativamente alto de FFA en el presente experimento en comparación con los informes anteriores sobre la misma especie cultivada (Rodríguez y col., 2007) y en otras especies de pescado graso (Aubourg y col., 1998, 2005a) en las mismas condiciones de congelación.

Para explicar esta diferencia, hay que tener en cuenta que el desarrollo de la hidrólisis de lípidos depende fuertemente del contenido de enzimas hidrolíticas, que puede estar fuertemente influenciado por diferentes factores externos e internos (Aubourg y col., 2005b; Sikorski y Kolakowski, 2000).

La interacción de la lipólisis y la oxidación de lípidos es un área de estudio particularmente interesante; así, se ha demostrado que la hidrólisis de triglicéridos da lugar a un aumento de la oxidación, mientras que la hidrólisis de fosfolípidos produce el efecto contrario (Shewfelt, 1981; Sikorski y Kolakowski, 2000). La liberación de FFA a partir de una matriz de triglicéridos puede acelerar su interacción con los catalizadores de oxidación y por lo tanto acelerar la tasa de oxidación de lípidos y la generación de sabores (Sista y col., 1997); este efecto pro-oxidante ha sido explicado como un efecto catalítico del grupo carboxilo en la formación de radicales libres por la descomposición de hidroperóxidos (Aubourg, 2001). Por el contrario, la liberación de FFA de fosfolípidos daría lugar a una interacción disminuida entre ácidos grasos oxidados y los oxidables dentro de la matriz de la membrana, inhibiendo así las reacciones de radicales libres de propagación (Shewfelt, 1981; Sista y col., 1997).

### **Evaluación bioquímica de la oxidación de lípidos**

En el presente experimento, se emplearon índices bioquímicos de oxidación de lípidos diferentes y complementarios para evaluar el desarrollo de rancidez. Se midió la oxidación de lípidos primaria por medio de la formación de dienos conjugados (DC) y la evolución del contenido de peróxidos mientras que la oxidación secundaria se evaluó por el valor de anisidina (AV) y la formación de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS). A lo largo del almacenamiento congelado, el contenido de DC

mostró un valor menor ( $p < 0,05$ ) para los individuos previamente alimentados con la dieta I que para sus homólogos correspondientes a las dietas II y III. Al ser producidos en una fase muy temprana de la oxidación de lípidos, el contenido de DC puede ser considerado el resultado de un equilibrio entre formación / descomposición (Aubourg y col., 1998). En el presente estudio, se concluye que los DC se destruyen más fácilmente en los individuos alimentados con la dieta I que en sus homólogos de las dietas naturales. Al comparar el pescado de las dietas II y III, se observaron algunos valores inferiores (meses 6 y 18) para los correspondientes a la dieta II. Para todo tipo de muestras, no hubo diferencias ( $p > 0,05$ ) en el período de 0-12 meses; posteriormente, se observó un aumento ( $p < 0,05$ ) para las dietas II y III. En todos los casos, los valores de correlación que se obtuvieron para el contenido en DC y el tiempo de almacenamiento fueron bajos.

La evaluación del PV mostró un marcado aumento ( $p < 0,05$ ) para todo tipo de muestras en el mes 6, alcanzando el valor medio más alto a los 9 meses de conservación; entonces, se pudo observar una tendencia decreciente en todo tipo de muestras. Como en el caso de la formación de CD, los peróxidos pueden ser considerados como el resultado de equilibrio entre una formación / descomposición (Aubourg y col., 2005a; Kim y Labella, 1987). La tendencia de liberación de peróxidos resultó ser mayor ( $p < 0,05$ ) para los individuos de la dieta I, que coincide con los resultados de CD anteriores; adicionalmente, se obtuvieron algunos valores más bajos para los individuos correspondientes a la dieta III en comparación con sus homólogos de la dieta II (meses 9 y 18).

La evaluación del AV mostró un importante incremento ( $p < 0,05$ ) durante todo el almacenamiento congelado para todo tipo de muestras, de modo que se obtuvieron buenos valores de correlación en todos los casos con el tiempo de congelación ( $r^2 = 0,89$  hasta  $0,92$ , ajuste lineal). Este aumento fue marcadamente alto en el mes 9 para los individuos alimentados con dietas II y III, y en el mes 12 para los de la dieta I. Por último, se produjo un aumento importante en el mes 18 para los individuos correspondientes a la dieta II. La comparación entre dietas llevó a un valor mayor ( $p < 0,05$ ) en los individuos pertenecientes a la dieta II. La comparación entre las otras dos dietas reflejó valores



superiores en el pescado de la dieta I en una etapa temprana (0-3 meses), pero inferior en un período más avanzado (9-12 meses).

La medida del TBA-i no llevó a diferencias ( $p > 0,05$ ) con el almacenamiento durante el período de 0-6 meses. Se observó una tendencia creciente ( $p < 0,05$ ) para todos los tipos de muestras hasta el final del experimento, pudiéndose obtener un buen ajuste de correlación con el tiempo ( $r^2 = 0,74$  a  $0,90$ , ajuste lineal). La formación de TBARS durante el período 9 - 18 meses fue mayor ( $p < 0,05$ ) para los individuos alimentados con la dieta II que para sus contrapartes de las dietas I y III. Los valores obtenidos pueden considerarse similares a los descritos para esta especie de cultivo (Rodríguez y col., 2007), pero inferiores a los de pescados grasos de especies silvestres almacenados en condiciones similares (Aubourg y col., 1998, 2005c).

#### **Estudio de la formación de compuestos de interacción**

La formación de compuestos como resultado de la interacción entre lípidos oxidados (oxidaciones primaria y secundaria) y moléculas nucleófilas (fundamentalmente de tipo proteico) fue evaluada por detección del desarrollo de fluorescencia (FR) y pardeamiento (BR). La FR no mostró diferencias en todo el tiempo de almacenamiento congelado para los individuos de las dietas II y III, de modo que se obtuvieron valores pobres de correlación entre dicho índice y el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, se pudo observar una tendencia creciente con el tiempo de almacenamiento congelado ( $r = 0,83$ , correlación lineal) para los individuos alimentados con dieta I, de acuerdo a una formación progresiva de compuestos de interacción. La comparación entre las dietas llevó a una formación superior ( $p < 0,05$ ) en el período de 6 a 18 meses para los individuos alimentados previamente con la dieta I. Se observó una formación más baja de compuestos de interacción durante la conservación en congelación en el caso de salmón previamente alimentado con naturales antioxidantes.

Al igual que para la detección de fluorescencia, la BR mostró una tendencia creciente ( $p < 0,05$ ) para los individuos alimentados con la dieta I ( $r^2 = 0,90$ , ajuste lineal), mientras que no se pudo obtener una tendencia clara para sus contrapartes de las dietas II y III. Para los valores de BR, no se pudieron detectar diferencias significativas como resultado del perfil antioxidante suministrado en la dieta. Sin embargo, y de acuerdo

con los valores FR, se obtuvieron valores superiores en los individuos correspondientes a la dieta I.

#### **Análisis del índice de polienos**

La pérdida de AGPI se midió siguiendo el PI de los lípidos en el músculo blanco. Este parámetro no mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) como resultado del tiempo de almacenamiento congelado para el pescado de las dietas II y III, mientras que se pudo observar una ligera tendencia decreciente ( $r^2 = 0,84$ , ajuste logarítmico) para los individuos de la dieta I. Los individuos a la dieta II mostraron ( $p < 0,05$ ) valores de PI superiores a sus homólogos de la dieta I; sin embargo, no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre piezas previamente alimentadas con ambas dietas naturales.

#### **4.2.2.3 Evaluación sensorial del sabor rancio**

El sabor rancio se evaluó en el pescado descongelado y cocido. Se observó un aumento progresivo en la puntuación con el tiempo de almacenamiento congelado en muestras de todas las condiciones de alimentación, de manera que se obtuvo una buena correlación ( $r^2 = 0,93$ ,  $0,87$  y  $0,92$  para las dietas I, II y III, respectivamente; ajustes cuadráticos) en todos los casos.

La mayoría de las muestras recibieron puntuaciones muy bajas (por debajo de  $0,5$ ) a lo largo del período de  $0 - 9$  meses; posteriormente a este tiempo, se observó una tendencia creciente para las dietas I y III. Sin embargo, en todos los casos, las valoraciones del sabor fueron incluidas en el dominio aceptable, incluso al final del experimento ( $18$  meses). La comparación entre las dietas llevó a la conclusión de que los individuos de la dieta I mostraron una rancidez mayor en el sabor en el período de  $12$  a  $18$  meses que sus contrapartes de las dietas II y III; además, se detectó un desarrollo inferior ( $p < 0,05$ ) al mes  $18$  en los individuos de la dieta II que en sus homólogos de la dieta III.

Entre los diferentes parámetros bioquímicos estudiados, los compuestos de oxidación secundaria de lípidos son conocidos por ser los más estrechamente relacionados con el formación de sabor rancio (White, 1994). Sin embargo, los valores de correlación del sabor rancio con el AV ( $r^2 = 0,67$  hasta  $0,89$ ) y TBA-i ( $r^2 = 0,69$  a  $0,79$ ) no fueron especialmente buenos. Sin embargo, se obtuvieron valores de correlación

mejores en el caso de estudiar la correlación entre el sabor rancio y la formación de FFA ( $r^2 = 0,83$ ,  $0,86$  y  $0,81$  para las dietas I, II y III, respectivamente), lo que concuerda con investigaciones anteriores sobre el salmón Atlántico congelado (Refsgaard y col., 1998).

#### **4.2.2.4 Conclusiones**

De acuerdo con la bibliografía estudiada, se llevó a cabo por primera vez un estudio comparativo de la calidad de pescado congelado, teniendo en cuenta el efecto de diversas dietas incluyendo un perfil diferenciado de antioxidantes (sintéticos y naturales).

Los resultados reflejaron una mejora de la estabilidad a la rancidez al emplear antioxidantes naturales en sustitución de sintéticos durante la comercialización de salmón en congelación. Después de 18 meses a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , todo tipo de pescado proporcionó valores de sabor rancio aceptables. Sin embargo, se detectó un desarrollo diferente de oxidación lipídica para las distintas muestras, en función del perfil de antioxidantes suministrado previamente. Así, la sustitución de antioxidantes sintéticos por una mezcla rica en tocoferoles llevó a una retención mayor de compuestos de oxidación lipídica primaria y secundaria, lo que condujo a una formación menor de compuestos terciarios de oxidación; tales resultados fueron acompañados por un valor superior en PI, así como por valores inferiores de desarrollo de sabor rancio. En relación con el desarrollo de la hidrólisis lipídica, no se detectó efecto alguno del perfil de antioxidantes incluido en la dieta.



#### **4.2.3 ANEXO 3. CAPITULO 3**

**Título:** Effect of the antioxidant profile in the diet of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) on the nutritional value retention during frozen storage.

**Autores:** J. Ortiz, M.A. Larraín, N. Pacheco, JP Vivanco, and S. P. Aubourg.

**Revista:** Grasas y Aceites.

**Año:** 2013, Volumen; 64, pág. 311 – 319

**Índice de impacto;** 0.882, Cuartil Tercero

**Editorial:** CSIC, edición electrónica

**DOI;** 10.3989/gya.107612





---

#### 4.2.4 CAPÍTULO 3. RETENCIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE ADICIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y TOCOFEROLES EN LA DIETA DE CULTIVO (ANEXO III)

---

##### 4.2.4.1 INTRODUCCIÓN.

---

Se proporcionó una dieta comercial incluyendo antioxidantes sintéticos (dieta I: BHT y etoxiquina) fue proporcionada a salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) en paralelo con dos dietas que incluían antioxidantes naturales (dieta II, mezcla rica en tocoferoles; dieta III, mezcla de tocoferoles-extracto de romero). Se realizó un estudio comparativo del valor nutricional de salmón a lo largo de un periodo de conservación de 18 meses a -18°C. Este estudio se realizó en paralelo y sobre el mismo diseño experimental que el Capítulo 2.

##### 4.2.4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

---

###### 4.2.4.2.1 Análisis Químico

El empleo de la dieta II llevó a muestras congeladas con contenido superior en proteínas sarcoplásmicas. Por otro lado, no se observaron diferencias a nivel de composición proximal. A nivel de composición en ácidos grasos, los individuos correspondientes a la dieta II reflejaron mayores contenidos en C22:6 $\omega$ 3 y monoinsaturados, pero menores en C20:5 $\omega$ 3 y saturados al ser comparados con sus homólogos de la dieta I.

###### 4.2.4.2.2 Antioxidantes sintéticos

En el caso de BHT, este compuesto no pudo ser cuantificado de manera satisfactoria ya que los valores oscilaron por debajo de 0,01 mg / kg músculo en todos los casos. Investigaciones anteriores han demostrado que el BHT proporcionado en la dieta sería altamente conservado en el hígado del pescado (Hollas y col., 2008). En cuanto a EQ, se observó una presencia a nivel de traza en la mayoría de las muestras en este estudio, con todos los valores por debajo de 0,03 mg/kg muscular. No se alcanzó un contenido mayor en los individuos correspondientes a la dieta I, mientras que no se detectaron diferencias por efecto del tiempo de conservación en congelación ( $p > 0,05$ ).

#### 4.2.4.2.3 Antioxidantes naturales

El análisis del contenido de  $\alpha$ -tocoferol indicó que no hubo diferencias significativas al comparar los diferentes tipos de muestras congeladas, lo que podría atribuirse a la dieta aplicada. Sin embargo, se observó una tendencia a la pérdida de  $\alpha$ -tocoferol en general como resultado del tiempo de almacenamiento congelado; esta disminución se encontró significativa al final del experimento en todos los casos. Investigaciones previas también han reflejado las pérdidas del contenido de  $\alpha$ -tocoferol en el músculo de pescado congelado como el salmón del Atlántico (*S. salar*) (Hamre y col., 1998), la trucha arco iris (*O. mykiss*) y jurel (*Trachurus trachurus*) (Medina y col., 2009).

Como justificación de estas pérdidas, se ha atribuido un papel preservante del  $\alpha$ -tocoferol en el sentido de experimentar pérdidas en su contenido con el fin de retardar la oxidación de lípidos en el músculo de pescado durante todo el almacenamiento congelado.

En cuanto a la presencia de  $\gamma$ -tocoferol, se observaron valores medios más bajos en los individuos correspondientes a la dieta I, en comparación con sus homólogos de dietas enriquecidas con antioxidantes naturales; no se encontraron diferencias significativas en los meses 0, 3, 12 y 18.

Se asume que se ha producido una mayor retención de esta molécula de tocoferol en individuos que pertenecen a ambas dietas que incluyen relativamente altos niveles de antioxidantes naturales.

El contenido de  $\delta$ -tocoferol mostró valores mayores a lo largo de todo el experimento en individuos correspondiente a la dieta II; no se encontraron diferencias significativas en los meses 0, 9, 12 y 18. En consecuencia, se infiere que hubo un marcado efecto de antioxidantes en la dieta sobre el contenido de este tipo de tocoferol. Se encontraron grandes diferencias entre individuos en la mayoría de los casos, de manera que no se pudo concluir una tendencia definida de variación del contenido de  $\delta$ -tocoferol a lo largo del tiempo de almacenamiento congelado para cualquier tipo de muestra bajo estudio. Esto tampoco ha sido establecido en otras investigaciones



anteriores durante el almacenamiento congelado de salmón del Atlántico (Hamre y col., 1998).

#### 4.2.4.2.4 Contenido de astaxantina y cambios de color

AX es bien conocida como el principal pigmento responsable del color de rosa de las especies de salmónidos, por lo que su retención durante el proceso debe ser muy importante para garantizar la aceptación por parte del consumidor y retener así el valor comercial del producto.

Los valores de contenido de AX se incluyeron en el rango de 6-12 mg / kg músculo. Apenas pudieron encontrarse diferencias entre los individuos correspondientes a las diversas dietas, de modo que no pudo deducirse un efecto definido de la dieta sobre el contenido de AX. En un estudio previo (Jensen y col., 1998), la adición de  $\alpha$ -tocoferol en la dieta tampoco afectó a la retención de AX en la trucha arco iris (*O. mykiss*) muscular. Además, no se llegó a concluir una tendencia clara para AX con el tiempo de almacenamiento congelado en los diferentes tipos de muestras. Bajo las presentes condiciones experimentales, se puede concluir que la dieta enriquecida con antioxidantes sintéticos, así como aquellas enriquecidas con los naturales han dado lugar a una retención del contenido de AX en el músculo de salmón congelado.

Esta retención de contenido AX está de acuerdo con la investigación previa relativa a las mismas especies bajo condiciones de congelación similares, alimentados previamente con una dieta enriquecida con antioxidantes sintéticos (Vinagre y col., 2011). Sin embargo, y contrariamente a los resultados actuales, se ha descrito una disminución del contenido de AX durante el almacenamiento congelado para el salmón del Atlántico (*S. salar*) (Christophersen y col., 1992) y la trucha arco iris (*O. mykiss*) (Jensen y col., 1998).

En lo que concierne a los cambios de color en el músculo, no se pudieron observar diferencias significativas entre los distintos tipos de muestras. Este resultado está de acuerdo con el hecho de que el contenido de AX no mostró prácticamente diferencias como resultado de los antioxidantes proporcionados en la dieta.

En el caso del valor de  $L^*$ , ya se ha descrito una creciente tendencia a su aumento como resultado de incrementar el tiempo de conservación en congelación (Christophersen y col., 1992), envasado al vacío y en refrigeración (4 °C) (Choubert y Baccaunaud, 2006) y presión hidrostática alta (Amanatidou et al., 2000) de especies salmónidas.

#### 4.2.4.2.5 Análisis de ácidos grasos

En todos los casos, se determinó que los ácidos grasos C18:1 $\omega$ 9 y C16:0, fueron los más abundantes seguido por C22:6  $\omega$ -3, C16:1  $\omega$ -7 y C20:5  $\omega$ -3. Un perfil similar obtuvieron Perea y col. (2008) y revisado por Vinagre y col. (2011) para la misma especie de salmón de cultivo. En cuanto al contenido de EPA, se obtuvo un valor medio más alto en muestras correspondientes a la dieta I, siendo significativamente más alta en el tiempo cero en comparación con los individuos correspondiente a las dietas II y III, enriquecidas con antioxidantes naturales. Se obtuvo un resultado opuesto para el contenido de DHA, siendo su valor medio menor en todos los individuos alimentados con la dieta I, con puntuaciones significativamente más bajas en el período de 0-6 meses, en comparación con los individuos de la dieta II. En todos los casos, incluyendo los ácidos grasos EPA y DHA, no se obtuvieron diferencias como resultado del tiempo de almacenamiento en congelado en cualquiera de los diferentes tipos de muestras en estudio.

Cuando se consideran los grupos de ácidos grasos, se obtuvo la siguiente secuencia de disminución del contenido general: AGPI > AGMI > AGS. Esta similitud de la composición del grupo de ácidos grasos entre tipos de muestras se puede explicar sobre la base que la misma composición de ácidos grasos estaba presente en las tres dietas. En este sentido, la investigación anterior representa un marcado efecto de la composición de ácidos grasos de la dieta en la composición de ácidos grasos del producto (Stéphan y col., 1995; Waagbo y col., 1993). Adicionalmente, los aceites de pescado en la dieta han demostrado una mejora del desarrollo de la oxidación de lípidos durante el almacenamiento congelado en comparación con las dietas incluyendo aceites no marinos (Stéphan y col., 1995; Waagbo y col., 1993); este resultado ha sido explicado

como resultado de una mayor presencia de AGPI en los peces alimentados con aceites marinos.

El análisis de AGS mostró valores medios más altos para los individuos correspondientes a la dieta I. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en el período de 12 a 18 meses entre las muestras correspondientes a ambas dietas enriquecidas con antioxidantes naturales. Por otro lado, se encontraron valores medios más altos de AGMI en individuos correspondientes a dietas II y III, con diferencias significativas entre los 0, 12 y 18 meses. El contenido de AGPI, presentó valores medios más altos durante todo el experimento en los individuos correspondientes a la dieta enriquecida con los antioxidantes sintéticos, aunque solo se observaron diferencias significativas en solo se observaron en los meses 3 y 6 al compararlos con los individuos de la dieta III.

#### **4.2.4.2.6 Conclusiones**

Se llevó a cabo un estudio del valor nutricional de salmón coho cultivado congelado, teniendo en cuenta el efecto de emplear dietas enriquecidas en distintos tipos de antioxidantes.

Como resultado, el empleo de una mezcla de tocoferoles (dieta II) llevó a muestras congeladas con valores superiores en proteínas sarcoplásmicas y en  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferol al ser comparadas con las muestras previamente alimentadas con dieta enriquecida en antioxidantes sintéticos (dieta I). Sin embargo, el perfil de antioxidantes no ejerció efecto alguno en la composición proximal, contenidos en  $\alpha$ -tocoferol y AX, así como en los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ). En relación a la composición de ácidos grasos, los individuos correspondientes a la dieta II reflejaron contenidos superiores en los ácidos C22:6 $\omega$ 3 y AGMI, pero inferiores en C20:5 $\omega$ 3 y AGS al ser comparados con sus correspondientes a la dieta I. Las diferencias entre individuos correspondientes a las dos dietas de antioxidantes naturales fueron escasas, siendo de mencionar únicamente valores mayores valores en  $\delta$ -tocoferol y DHA en individuos pertenecientes a la dieta II.



**4.3 PARTE 3. MEJORA DE LA CALIDAD DE SALMÓN ATLÁNTICO MEDIANTE TRATAMIENTO A ALTAS TEMPERATURAS: ENLATADO CON APLICACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES Y OPTIMIZACIÓN DE SECADO CONVECCIONAL.**





#### 4.3.1 ANEXO 4. CAPITULO 4

**Título:** Lipid and sensory quality of canned Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect of the use of different seaweed extracts as covering liquids.

**Autores:** Jaime Ortiz, Juan P. Vivanco, and Santiago P. Aubourg.

**Revista:** European Journal Lipids Science and Technology.

**Año:** 2014, Volumen; 64, pág. 596 – 605

**Índice de impacto:** 1.812, Cuartil Segundo

**Editorial:** Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim DOI

**10.1002/ejlt.200800131**







#### 4.3.2 CAPÍTULO 4. INHIBICIÓN DE RANCIDEZ EN SALMÓN ATLÁNTICO ENLATADO MEDIANTE INCLUSIÓN DE EXTRACTO DE ALGAS COMO LÍQUIDO DE COBERTURA (ANEXO IV)

---

##### 4.3.2.1 INTRODUCCIÓN.

---

El objetivo de esta investigación fue comparar los efectos de la adición de extractos de diferentes algas en los parámetros lipídicos y de calidad sensorial de músculo de salmón Atlántico (*Salmo salar*) enlatado. Para este propósito, los extractos de cuatro algas marinas diferentes ***Durvillaea antarctica*** (frondas y tallo denominados cochayuyo y ulte, respectivamente) ***Ulva lactuca*** (lechuga de mar) y ***Pyropia columbina*** (luche rojo) fueron ensayados como medio de cobertura. Los parámetros analizados incluyeron el análisis de la composición en ácidos grasos, el desarrollo de la oxidación lipídica, el contenido en astaxantina, tocoferoles y nitrógeno básico volátil total (TVB-N), así como la evaluación sensorial de sabor y olor rancio.

##### 4.3.2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

---

###### 4.3.2.2.1 Análisis químico

El análisis de la carne de salmón Atlántico utilizada para la elaboración de los enlatados tuvo la siguiente composición nutricional (g/100g); humedad ( $66,5 \pm 0,1$  %), lípidos ( $12,6 \pm 1,8$  %), cenizas ( $1,0 \pm 0,3$  %), (proteínas de  $17,7 \pm 2,2$  %) y carbohidratos ( $2,2 \pm 0,2$  %; obtenido por diferencia).

Los resultados indicaron que durante el periodo de almacenamiento de los enlatados se obtuvieron variaciones significativas ( $p < 0,05$ ) del perfil lipídico. Las diferencias significativas en el contenido de los grupos AGS, AGMI y AGPI fueron evidenciadas a través del tiempo de almacenamiento estudiado, y entre los cinco tipos de líquidos de cobertura considerados en esta investigación ( $p < 0,05$ ). El salmón enlatado añadido con extractos de ulte y luche rojo presentó un menor contenido de AGS pero valores mayores de AGPI a través del tiempo de almacenamiento en comparación con el control y los otros dos extractos de algas marinas utilizadas. Por otra

parte, las diferencias presentadas por el aumento en el contenido de AGMI de los enlatados con extractos cochayuyo y ulva pudieron ser debidas a la degradación de AGPI por el tratamiento térmico, efecto que ha sido descrito en otros estudios (Medina y col., 2012). Igualmente, estos cambios en el contenido de AGPI se ven reflejados en las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) presentadas por el índice de polienos (PI) tanto durante el tiempo de almacenamiento como a nivel de los diferentes líquidos de cobertura utilizados. En general, los valores de PI obtenidos para las conservas de salmón con extracto de ulve demuestran que esta alga desarrolló una mayor inhibición de la alteración de los AGPI durante el periodo de almacenamiento de salmón enlatado.

#### **4.3.2.2.2 Oxidación lipídica**

La evaluación de la oxidación primaria medida como PV mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) tanto con el tiempo de almacenamiento, así como con el tipo de recubrimiento utilizado. Se obtuvo una mayor tendencia de formación de peróxidos para los enlatados con luche rojo, lechuga de mar y el control después de cumplir 115 días de almacenamiento. No obstante, los PV encontrados fueron bajos en todos los casos, lo que puede ser explicado por la aceleración de la generación de peróxidos producida por el tratamiento térmico, así como su rápida transformación en productos secundarios de oxidación, o una posible reacción de los hidroperóxidos con algunos constituyentes del músculo de salmón (Aubourg, 2001). Los valores encontrados también fueron favorecidos con el tipo del recipiente utilizado (estaño), que ejerce una barrera al oxígeno de entrada, y por lo tanto, inhibe la generación de hidroperóxidos en el salmón enlatado (Spuch y col., 2004). Sin embargo, sólo el extracto ulve reflejó una ligera inhibición en la formación de hidroperóxidos en salmón enlatado en comparación con el control.

La evaluación de la oxidación secundaria medida como pAV mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) durante todo el tiempo de almacenamiento para todo tipo de muestras. La muestra control indicó un claro incremento de este valor entre los días 60 y 115, y para todas las muestras que contenían extracto de algas se observó una disminución significativa del pAV. Estos resultados podrían indicar que los extractos de

algas marinas tienen la capacidad de generación de retardo de los productos secundarios de la oxidación, o bien de favorecer su ruptura.

Cuando se utilizó el extracto luche rojo como líquido de cobertura, se observó una mayor disminución del pAV a través del tiempo; este efecto fue también observado pero en menor medida por la utilización de ulve y cochu yuyo. Las muestras control, condujeron a un pAV más alto ( $p < 0,05$ ) que en el caso de las muestras con extractos de algas. Otros autores encontraron el pAV considerablemente más alto (entre 13,3 y 29,0) en el salmón coho en lata usando diferentes condiciones de hielo como tratamientos previos (Rodríguez y col., 2010). Por otro lado, se debe estudiar si una tendencia a la disminución de la formación de peróxidos y de compuestos secundarios en las primeras etapas de almacenamiento es debida a los cambios causados por el proceso de esterilización y a la etapa de equilibrio entre sólidos y líquidos, en las que se produce un proceso de estabilización entre la materia prima y el medio líquido de empaque (Ruíz-Roso y col., 1998). Esta disminución también se ha atribuido a un efecto de dilución de productos secundarios de oxidación, que pueden ser extraídos con el líquido de cobertura desde el músculo del pescado, pudiendo después ser distribuidos por todo el músculo por la presencia del medio de cobertura, o sus compuestos ser expulsados del músculo en la forma de exudados (Aubourg y col., 2005a). También, los aldehídos pueden reaccionar con proteínas u otros compuestos biológicos en los sistemas oxidados durante el tratamiento térmico, que también puede conducir a una disminución en el pAV (Aubourg y col., 2001b).

#### **4.3.2.2.3 Antioxidantes endógenos**

En el curso de esta investigación, todos los enlatados estudiados mostraron un aumento significativo del contenido en tocoferoles después del octavo día de almacenamiento a 40 ° C ( $p < 0,05$ ). El salmón enlatado junto a extracto de ulva mostró el valor más alto para el contenido en tocoferoles en el comienzo del trabajo (368 mg / kg), así como en el día 170 con 729 mg/kg, mostrando diferencias significativas con el control ( $p < 0,05$ ). El aumento en la cantidad de tocoferoles a través del almacenamiento puede ocurrir principalmente debido a que los tocoferoles se suministran a los peces de cultivo en las dietas durante su período de crecimiento en la forma de un éster de

tocoferol (acetato de alfa-tocoferol), del cual sólo una fracción sería absorbida por los lípidos presentes en la carne de salmón (Hamre, 2011), mientras que la otra fracción de restos de acetato de  $\alpha$ -tocoferol se encontraría en la forma ligada y esterificada en los tejidos. De este modo, al encontrarse el éster en un medio acuoso comenzaría a hidrolizarse, lo que provocaría una liberación gradual de tocoferol, y por lo tanto, un aumento de la cantidad de tocoferoles libres en la carne de salmón durante un largo tiempo de almacenamiento. En otra investigación (Rodríguez y col., 2007), los autores encontraron un comportamiento similar en el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en el músculo de salmón coho durante los primeros 8 meses de conservación en congelación. Se demostró que la mayoría de los tocoferoles presentes en varias especies de pescado se depositan en el hígado, así como también en el intestino y el vientre, y el resto es depositado sobre el músculo (Malone y col., 2004). Otra razón probable de por qué no se observó una disminución en los niveles de tocoferoles puede ser el hecho de que las altas temperaturas ayudan a disminuir la solubilidad del oxígeno en lípidos, por lo que la autooxidación de tocoferol puede ocurrir más lentamente y sería reemplazada por reacciones de polimerización (Ingemansson y col., 1993).

El contenido de astaxantina (AX) durante el almacenamiento mostró diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ), y varió de 1,1 a 3,5 mg / kg en el músculo del salmón; estos niveles fueron inferiores a los determinados anteriormente por Gordon y col. (2001), quienes encontraron concentraciones medias de AX muscular en salmónidos de 4,6 mg / kg. Además, estos autores observaron que la pigmentación producida por la retención de carotenoides está influenciada por factores genéticos, la maduración sexual (mayor en los peces inmaduros), y su tamaño (mayor en piezas mayores). El contenido de AX en todas las muestras de salmón enlatado disminuyó significativamente durante el almacenamiento ( $p < 0,05$ ). Este comportamiento es similar al encontrado previamente para la trucha arco iris almacenada en congelación (*Oncorhynchus mykiss*) y alimentada con dos tipos de dietas (Ingemansson y col., 1993).

La retención más eficiente de AX se logró con extracto de luche rojo (73%), seguido por la lechuga de mar (71%) y cochayuyo (67%), dejando en el último lugar el alga ulve, que obtuvo un valor de retención idéntico al alcanzado por la muestra control (40%). Este resultado demuestra que la mayoría de los extractos de algas marinas

ensayadas presentan una buena protección contra el descenso del contenido en AX; por lo tanto, en este caso la AX no sería usada como un antioxidante, sino más bien los constituyentes de los extractos llevarían a cabo esta función. El salmón enlatado en presencia de extracto de ulva obtuvo valores y un comportamiento similar a los encontrados con luche roja; sin embargo, la etapa de descenso duró hasta el día 115. Con respecto a la disminución observada en todos los casos en los niveles de AX después del día 60 en todos los casos, se puede inferir que, al ser utilizada en funciones antioxidantes, puede conducir a cambios en el color (Contreras, 2002). Es importante señalar que la disminución del contenido del pigmento AX en estas concentraciones (<6 mg de AX / g de músculo de pescado) no tiene gran influencia en los cambios en sabor de pescado (Sheehan y col., 1998; Refsgaard y col., 1998).

#### **4.3.2.2.3 Bases volátiles totales (N-BVT)**

Los resultados indican que el contenido en N-BVT aumentó de forma constante en el tiempo para la mayoría de los casos, y mostró diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) durante todo el periodo de almacenamiento.

En los productos marinos el proceso térmico y el tiempo de almacenamiento causan un aumento en el valor de N-BVT generado principalmente por degradación del óxido de trimetilamina. La formación de N-BVT causa pérdidas en la calidad bioquímica y sensorial de las conservas de pescado, ya que está asociada a la generación de aminas de bajo peso molecular como productos de alteración (Gallardo y col, 1990; Medina y col., 2012). En el presente estudio, todos los tipos de salmón enlatado mostraron valores cercanos a 30 - 35 mg N-BVT / 100 g en el octavo día de almacenamiento a 40 ° C, rango que se ha establecido como límite máximo para el salmón Atlántico por la Unión Europea (EC; Official Journal of the European Communities, 1995). Por otro lado, el estándar del Servicio Nacional de Pesca (entidad gubernamental chilena) solo establece límites máximos de N-BVT para productos frescos pero no para conservas de pescado (SERNAPESCA, 2012). Los resultados obtenidos para el salmón Atlántico en lata en esta investigación fueron inferiores a los descritos para las conservas de abadejo (*Genypterus blacodes*) almacenado durante 3 meses a temperatura ambiente, obteniendo valores de 49.61 y 52.01 (mg N-BVT /100 g) cuando se utilizó agua y salmuera como líquido de

cobertura, respectivamente (Abugoch y col., 2005). Rodríguez y col. (2007) obtuvieron valores entre 36,2 y 46,0 (mg N-BVT / 100 g) en carne enlatada de salmón coho después de 3 meses de almacenamiento a 15 - 18 ° C; valores similares se alcanzaron en nuestro estudio con todos los extractos de algas en el día 170 de almacenamiento a 40 °C. El salmón Atlántico enlatado con luche rojo como líquido de cobertura mostró los valores más bajos para N-BVT en el músculo al final del estudio en comparación con las muestras control. Esto puede ser debido a una actividad antimicrobiana potencial de algunos componentes contenidos en esta alga.

#### **4.3.2.2.4 Evaluación sensorial**

Los parámetros sensoriales de "sabor característico" y "olor rancio" se midieron en la carne de todas las muestras de salmón enlatado de esta investigación. Ninguno de estos parámetros mostró diferencias significativas entre las distintas muestras ( $p > 0,05$ ), por lo que el líquido de cobertura (extracto de algas marinas) que se utilizó para su preparación no afecta a la generación de sabores y olores no característicos. En todos los casos, las puntuaciones de "sabor característico" se incluyeron en el dominio aceptable al final del experimento (por encima de 7,0); simultáneamente, mientras que el parámetro "olor rancio" fue evaluado por el panel sensorial con valores muy bajos, por lo que todos los tipos de salmón enlatado fueron evaluados como altamente aceptables. Un comportamiento similar para el "olor rancio (oxidado)" fue encontrado por Rodríguez y col. (2010) en muestras de salmón coho en lata previamente tratadas en diferentes condiciones de formación de hielo. Las muestras conservadas de salmón Atlántico con cochayuyo como líquido de cobertura mostraron una puntuación más alta para "sabor característico"; éstas, junto con las correspondientes al tratamiento con ulte, mostraron los valores menores de desarrollo de "olor rancio" para todo el periodo de conservación.

#### **4.3.2.2.5 Conclusiones**

Los resultados han reflejado ventajas en la calidad de conservas de salmón, al emplear extractos de algas incluyendo componentes antioxidantes. Después de 170 días de conservación a 40 °C, todas las muestras enlatadas indicaron valores aceptables de olor oxidado así como de aroma característico. El empleo de los extractos de algas como medio de cobertura contribuyó al descenso del contenido en productos de oxidación

secundaria (p-AV) en salmón enlatado, en contra de lo observado en las muestras control. Estos resultados fueron acompañados por una mayor retención de AGPI y de AX, así como de valores menores para el olor rancio. En relación con la evaluación sensorial, no se observaron diferencias significativas entre las distintas algas ensayadas.







#### 4.3.3 ANEXO 5. CAPITULO 5

**Título:** Influence of air-drying temperature on drying kinetics, colour, firmness and biochemical characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fillets

**Autores:** Jaime Ortiz, Roberto Lemus-Mondaca, Antonio Vega-Galvez, Kong Ah-Hen, Luis Puente-Díaz, Liliana Zura-Bravo, Santiago P. Aubourg.

**Revista:** Food Chemistry.

**Año:** 2013, Volumen 139, pág. 162-169.

**Índice de impacto;** 3.382, Cuartil Primero

**Editorial:** Elsevier

**[www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)**





---

#### 4.3.4 CAPÍTULO 5. PRESERVACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE SALMÓN ATLÁNTICO (*S. salar*) MEDIANTE OPTIMIZACIÓN DEL SECADO CONVENCIONAL (ANEXO V)

---

##### 4.3.4.1 INTRODUCCIÓN.

---

En este trabajo se estudiaron las cinéticas de secado de filetes de salmón Atlántico y la influencia de la temperatura de secado con aire sobre las características bioquímicas (perfil lipídico, contenido en tocoferoles, astaxantina, p-anisidina y TBA-i), color y firmeza de filetes del músculo.

##### 4.3.4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

---

###### 4.3.4.2.1 Análisis químico

###### 4.3.4.2.1.1. Oxidación de lípidos

El salmón Atlántico utilizado en este estudio presentó una composición mayoritaria en ácidos palmítico, EPA y DHA similar a las descritas para salmón coho y Atlántico ya sean éstos provenientes de cultivos o de origen silvestre (Jensen y col., 2012; Aubourg y col., 2005a). Durante el secado de los filetes de salmón la composición en los ácidos grasos presentó ligeros cambios. El contenido en los ácidos palmítico, EPA (C20:5 $\omega$ 3) y DHA (C22:6 $\omega$ 3) fue significativamente mayor en los filetes crudos en comparación con las muestras de pescado seco ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, en un estudio sobre la carpa herbívora, Wu y Mao (2008) mostraron que los procesos de secado incrementaron significativamente los contenidos relativos de ácidos palmítico, EPA y DHA ( $p < 0,05$ ). Los compuestos secundarios de la oxidación formados durante el secado y medidos por el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA-i) presentaron un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de este valor en las muestras de salmón en todas las condiciones de secado ensayadas. Estos resultados son similares a los obtenidos para la carne de dos especies de pescado secados por ahumado y secados al sol (*Glanis Silurus* y *Arrio parkii*), donde se observó un aumento en el valor TBA-i (Ali y col., 2011). Por otro lado el TBA-i disminuyó a medida que aumentó la temperatura de secado de 40 a 60 °C; asimismo, se puede suponer que el tiempo de exposición durante el secado tendría un efecto mayor

sobre la formación de compuestos de oxidación lipídica secundarios en las muestras de pescado seco.

El secado aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) los valores de *p*-anisidina (*p*AV) en las muestras de pescado seco siendo mayor el aumento cuando se realizó el secado lento a 40 °C que el secado rápido realizado a 60 °C. Esto se puede considerar como una clara indicación de la rápida descomposición de hidroperóxidos en productos de oxidación secundaria con la temperatura y el tiempo de secado. Los hidroperóxidos son inestables y se descomponen durante la deshidratación a temperaturas elevadas para formar radicales libres y una variedad de productos químicos, tales como alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, dímeros, trímeros, polímeros y compuestos cíclicos (Tan y col., 2002). Resultados similares se observaron durante el secado con aire caliente y microondas de filetes de carpa herbívora (Wu y Mao, 2008). De forma similar al TBA-i, el valor de *p*AV de las muestras secas de filete disminuyó a medida que aumentó la temperatura de secado de 40 a 60 °C, lo que confirmó que el mayor tiempo de exposición dado por una temperatura baja (40 °C) ejerce una mayor oxidación secundaria comparado con un secado más rápido a mayor temperatura (60 °C).

#### **4.3.4.2.1.2 Antioxidantes endógenos**

El contenido de tocoferoles presentó algunas diferencias durante todo el experimento que podría explicarse más bien como un resultado de las diferencias inherentes dentro de las muestras de pescado como una consecuencia del proceso de secado. Tanto,  $\gamma$ - como  $\alpha$ -tocoferol mostraron resultados similares a los obtenidos en otros estudios realizados con la trucha arco iris y el salmón Atlántico (Jensen y col., 1998; Nordgården y col., 2003). En el presente experimento, el contenido de tocoferol disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) después de secado a las tres temperaturas, mientras que  $\gamma$ -tocoferol sólo disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) a la temperatura de secado de 40 °C.

A 50° y 60 °C no hubo diferencias significativas en el contenido de  $\gamma$ -tocoferol en comparación con la muestra de filete de pescado fresco, lo que puede ser atribuido a la exposición más corta para el procesamiento en comparación con el secado a 40 °C. También se encontró el contenido más bajo de  $\alpha$ -tocoferol en las muestras secadas a 40 °C, lo cual puede ser debido al mayor tiempo de exposición. Por otra parte, es

interesante observar que el contenido de  $\alpha$ -tocoferol fue mayor en las muestras secadas a 50 °C que en aquellas secadas a 60 °C. Una explicación sería que en el estudio a 60 °C se observó un mayor contenido de grasa derretida en la superficie de la muestra. Considerando una disminución de la viscosidad de la fase lipídica con la temperatura, la pérdida de grasa fundida del tejido a 60 °C, pudo ser responsable de la mayor pérdida de  $\alpha$ -tocoferol liposoluble.

El valor de AX medido en las muestras de salmón crudo fue similar al obtenido por Sheehan y col. (1998). La investigación anterior ha demostrado también que la AX puede deteriorarse ya sea a través de degradación enzimática por lipoxigenasa y peroxidasa, o bien a través de la degradación no enzimática por la luz, el calor o el oxígeno. En el presente estudio, se observó que el contenido de AX en las muestras secadas a 40 °C no fue significativamente diferente de las muestras frescas. Sin embargo, en el secado a las temperaturas de 50 y 60 °C el contenido de AX fue significativamente mayor en los filetes de salmón secos en comparación con el de las muestras frescas. Esto demostró que el proceso de secado de hasta 60 °C no causó destrucción significativa de AX pero tuvo lugar un efecto de concentración.

#### **4.3.4.2.1.3 Color**

Los valores promedio de las coordenadas cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para las muestras de pescado fresco y deshidratado fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Aunque el valor más bajo de  $L^*$  se obtuvo en la muestra fresca, lo que indica un tono más oscuro en conjunto para el salmón fresco en comparación con las muestras deshidratadas, sólo se observaron pequeñas diferencias en la luminosidad de las muestras. El secado de la superficie del filete elimina la humedad dejando un revestimiento de proteína (película) que probablemente incrementó la luminosidad de las muestras secas. A los 50° y 60 °C el valor  $L^*$  disminuyó en comparación con el tratamiento en 40 °C y puede ser debido al desarrollo de color a través de pardeamiento más severo cerca del final del período de secado, cuando el nivel de humedad de la muestra es baja y se produce un enfriamiento menor por evaporación. El secado prolongado a temperaturas más altas favoreció reacciones de pardeamiento que causaron una disminución del valor de luminosidad que se produce con frecuencia durante el tratamiento térmico (Leadley y col., 2008; Patras, 2009).

#### 4.3.4.2.1.4 Firmeza

En este estudio la firmeza del filete de salmón deshidratado se evaluó mediante una punción. El salmón fresco presentó una firmeza de  $20,59 \pm 1,18 \text{ N / mm}$ , que fue significativamente ( $p < 0,05$ ) más bajo en comparación con la firmeza de todas las muestras de filete que se secaron a 40, 50 y 60 °C. La firmeza aumentó con la temperatura de secado. Se alcanzó un valor de  $77,05 \pm 4,75 \text{ N / mm}$ , a una temperatura de deshidratación de 60 °C, que puede ser considerado un importante aumento en comparación con la firmeza de la muestra fresca ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.4.2.1.5 Optimización del secado

Antes de abordar el estudio de secado de cualquier alimento, es necesario evaluar sus isotermas de sorción de humedad ya que éstos describen la relación en equilibrio entre la actividad de agua y el contenido de humedad del producto alimenticio. La humedad inicial en el equilibrio del salmón Atlántico estuvo entre  $3,07 \pm 0,10 \text{ g de agua / g d.m.}$  y  $0,18 \pm 0,04 \text{ g de agua / g d.m.}$ , respectivamente. Se pudo observar un efecto claro de la temperatura en el comportamiento de secado de los filetes de salmón se pudo observar. Así, un aumento en la temperatura de secado se acompañó de una disminución en el tiempo de secado. El tiempo necesario para alcanzar el equilibrio en el contenido de humedad en todos los experimentos fue entre 2000 y 4000 min.

El análisis de varianza de la difusividad efectiva de la humedad ( $D_{\text{eff}}$ ) en los medios para los filetes de salmón mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) cuando se observó la influencia de la temperatura. El valor más alto de  $D_{\text{eff}}$  ( $1,90 \pm 0,22 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$ ) se obtuvo a 60 °C, mientras que el valor más bajo ( $1,08 \pm 0,12 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$ ) se produjo a 40 °C. Estos valores están dentro del rango general ( $10^{-11}$  a  $10^{-9} \text{ m}^2 / \text{s}$ ) para el secado del pescado según lo informado por Panagiotou y col. (2004), siendo ligeramente superiores a los descritos para calamar brasileño (Teixeira y Tobinaga, 1998). Sin embargo, son comparativamente menores que los valores obtenidos para  $D_{\text{eff}}$  bajo secado por convección con aire, para los calamares gigantes entre  $0,78 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 / \text{s}$  a 50 °C y  $3,2 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 / \text{s}$  a 90 °C.

Las diferencias observadas podrían explicarse por la diversidad de especies de productos del mar, la temperatura de proceso, la orientación del músculo, el contenido de grasa y la presencia o ausencia de la piel (Medina-Vivanco y col., 2002). Se obtuvo una relación lineal al considerar la ecuación de Arrhenius ( $R^2 = 0,98$ ) mediante análisis del logaritmo natural de  $D_{\text{eff}}$  como una función del recíproco de la temperatura absoluta. A partir de la pendiente de esta línea, se determinó un valor de energía de activación de  $24,57 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Con estos resultados se pudo determinar la cinética de secado, y optimizar las mejores condiciones para mantener los atributos de calidad de los filetes de salmón Atlántico secos. De esta forma los parámetros operacionales pueden ser utilizados para mejorar las características finales del producto. Una mayor difusividad ( $D_{\text{eff}}$ ) de la humedad determinada a  $60^\circ\text{C}$  se ha asociado a un tiempo de secado más corto, que es favorable para una mejor calidad del pescado seco. Se ha tomado en cuenta que la formación de productos secundarios de oxidación lipídica depende durante el secado en mayor grado del tiempo de exposición que de la temperatura. La firmeza de muestras secas también aumentaría con la temperatura.

#### **4.3.4.2.1.6 Conclusiones**

Los resultados de este trabajo indican que las cinéticas de secado, así como los atributos de calidad medidos en filetes de salmón Atlántico pueden ser usados para mejorar las características finales del producto. Como resultado, se ha asociado una mayor difusividad de la humedad determinada a  $60^\circ\text{C}$  a un tiempo de secado más corto, lo cual es favorable para obtener una calidad superior en el pescado seco. La formación de productos de oxidación secundaria (índices de TBA y anisidina) dependió durante el secado en mayor medida del tiempo de exposición que de la temperatura. La temperatura de secado resultó ser de menor detrimento que el tiempo de exposición en aspectos de la calidad tales como los contenidos en ácidos palmítico, EPA, DHA, así como en  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol. El contenido en AX no se deterioró durante el secado, manteniéndose por tanto el color rojo en la muestra secada. La leve diferencia de color fue debida únicamente a la presencia de algunos compuestos de pardeamiento que se formaron principalmente durante el secado a  $60^\circ\text{C}$ . La firmeza de las muestras secadas aumentó también con la temperatura.

#### 4.4 BIBLIOGRAFÍA

---

**Abugoch, L. E., Quitral, V., Vinagre, J., Larraín, M. A., Quijada, J. P.,** The influence of frozen and canned storage on the chemical freshness parameters, determined in golden kingclip (*Genypterus blacodes*). *Acta Aliment.* 2005, 34, 211–218.

**Amanatidou A, Schlüter O, Lemkau K, Gorris L, Smid E, Knorr D.** Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2000. 1, 87-98.

**Aubourg, I. Medina, J. Gallardo:** Quality assessment of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) during chilled storage by monitoring lipid damages. *J Agric Food Chem.* 1998, 46, 3662–3666.

**Aubourg, S., Rodríguez, A., & Gallardo, J.** Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): Effect of catching season and commercial presentation. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2005a, 107, 316–323.

**Aubourg, I. Medina, R. Pérez-Martín:** Polyunsaturated fatty acids in tuna phospholipids: Distribution in the sn-2 location and changes during cooking. *J Agric Food Chem.* 1996, 44, 585–589.

**Aubourg, S. ().** Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2001a, 81, 385–390.

**Aubourg, S. P.,** Review: Loss of quality during the manufacture of canned fish products. *Food Sci. Technol. Int.* 2001b, 7, 199–215.

**Aubourg, S. P., Vinagre, J., Rodríguez, A., Losada, V. et al.,** Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2005b, 107, 411–417.

**Blanchet, M. Lucas, P. Julien, R. Morin, S. Gingras, E. Dewailly:** Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids.* 2005, 40, 529–531.

**Chen, J. Nguyen, K. Semmens, S. Beamer, J. Jaczynski:** Physicochemical changes in o-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle during refrigerated storage. *Food Chem.* 2007, 104, 1143–1152.

**Choubert G, Baccaunaud M.** Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere. *Lewensm. Wiss. Technol.* 2006, 39, 1203-1213.

**Christophersen A, Bertelsen G, Andersen H, Knuthsen P, Skibsted L.** Storage life of frozen salmonids. Effect of light and packaging conditions on carotenoid oxidation and lipid oxidation. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1992. 194, 115-119.

**Contreras, E.,** *Bioquímica de Pescados e Invertebrados*, Editorial CECTA-USACH, Santiago de Chile, 2002.

**Council Regulation:** Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow

trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage (L5/21, 07. 01.1989). *Off J Eur Comm.* 1989, 5–6.



EC, Commission Decision 95/149/EC of 8 March 1995 Fixing the Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Limit Values for Certain Categories of Fishery Products and Specifying the Analysis Methods to be Used, Official Journal of the European Communities, Brussels L 097, April 29, 1995, pp. 84–87.

**Gobantes, G. Choubert, R. Gómez:** Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage. *J Agric Food Chem.* 1998, 46, 4358–4362.

**Gordon Bell, J., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F. et al.,** Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *J. Nutr.* 2001, 131, 1535–1543.

**Hamre K, Berge R, Lie O.** Oxidative stability of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) fillet enriched in  $\alpha$ -, g- and d- tocopherol through dietary supplementation. *Food Chem.* 1998. 62, 173-178.

**Hollas E, Bohne V, Hamre K, Arukwe A.** Hepatic retention and toxicological responses during feeding and depuration periods in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed graded level of the synthetic antioxidant, butylated hydroxytoluene. *J. Agric. Food Chem.* 2008.56, 11540-11549.

**Ingemansson, T., Pettersson, A., Kaufmann, P.,** Lipid hydrolysis and oxidation related to astaxanthin content in light and dark muscle of frozen stored rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Food Sci.* 1993, 58, 513–518.

**Jensen, E. Birk, A. Jokumsen, L. Skibsted, G. Bertelsen:** Effect of dietary levels of fat,  $\alpha$ -tocopherol and astaxanthin on colour and lipid oxidation during storage of frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and during chill storage of smoked trout. *Z Lebensm Unters Forsch A.* 1998, 207, 189–196.

**Jensen, J., Mæhre, H., Tømmerås, S., Eilertsen, K., Olsen, R., & Elvevoll.** Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is a good source of long chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Bulletin*, 2012, 37, 25–29.

**Kamal - Eldin, A., Appelqvist, L. - A** The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996, 31, 671–701.

**Kolakowska, L. Zienkiewicz, Z. Domiszewski, G. Bienkiewicz:** Lipid changes and sensory quality of whole- and gutted rainbow trout during storage in ice. *Acta Ict Pisc.* 2006a, 36, 39–47.

**Kolakowska, Z. Domiszewski D. Kozlowski, M. Gajowniczek:** Effects of rainbow trout freshness on n-3 polyunsaturated fatty acids in fish offal. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2006b, 108, 723–729.

**Leadley, C., Tucker, G., & Fryer, P.** A comparative study of high-pressure sterilization and conventional thermal sterilization: Quality effects in Green beans. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 2008, 9, 70–79.

**Losada, C. Piñeiro, J. Barros-Velázquez, S. Aubourg:** Inhibition of chemical changes related to freshness loss during storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in slurry ice. *Food Chem.* 2005, 93, 619–625.

- Losada, J. Barros-Velázquez, J. Gallardo, S. Aubourg:** Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2004, 106, 844–850.
- Medina I, Gallardo JM, Aubourg S.** Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, Vol. 44, 8, 1467–1479.
- Medina, M.I., Gallardo, J.M.,** in: **D.-W. Sun** (Ed.), *Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA 2012, pp. 249–271
- Medina-Vivanco, A., Sobral, P., & Hubinger, M.** Osmotic dehydration of tilapia fillets in limited volume of ternary solutions. *Chemical Engineering Journal.* 2002, 86, 199–205.
- Nordgarden, U., Ørnsrud, R., Hansen, T., & Hemre, G.** Seasonal changes in selected muscle quality parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared under natural and continuous light. *Aquaculture Nutrition.* 2003, 9, 161–168.
- Panagiotou, N., Krokida, M., Maroulis, Z., & Saravacos, G.** Moisture diffusivity: Literature data compilation for foodstuffs. *International Journal of Food Properties.* 2004, 7, 273–299.
- Patras, A., Tiwari, B., Brunton, N., & Butler, F.** Modelling the effect of different sterilisation treatments on antioxidant activity and colour of carrot slices during storage. *Food Chemistry.* 2009, 114, 484–491.
- Pearson, J. Love, F. Shorland:** “Warmed-over” flavor in meat, poultry and fish. *Adv Food Res.* 1977, 23, 2–61
- Perea, A., Gómez, E., Mayorga, Y., Triana, C. Y.,** Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia. *Arch. Latinoam. Nutr.* 2008, 58, 91–97.
- Refsgaard, H. H. F., Brockhoff, P. B., Jensen, B.,** Sensory and chemical changes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 3473–3479.
- Rodríguez, A., Carriles, N., Aubourg, S. P.,** Effect of chill storage under different icing conditions on sensory and physical properties of canned farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 2010, 45, 295–304.
- Rodríguez, A., Losada, V., Larraín, M. A., Quitral, V. et al.,** Development of lipid changes related to quality loss during the frozen storage of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2007, 84, 727–734.
- Rodríguez, I. Besteiro, C. Pascual:** Biochemical changes in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *J Sci Food Agric.* 1999, 79, 1473–1480.
- Ruíz-Roso, B., Cuesta, I., Pérez, M., Borrego, E. et al.,** Lipid composition and palatability of canned sardines. Influence of the canning process and storage in olive oil for five years. *J. Sci. Food Agric.* 1998, 77, 244–250.
- SERNAPESCA,** Requisitos sanitarios y planes de muestreo para la certificación sanitaria de productos pesqueros de exportación: Programa de Certificación, Norma Técnica,

Sección 2, Gobierno de Chile, Servicio Nacional de Pesca, Departamento de Sanidad Pesquera, Valparaíso, Chile 2012, p. 104.

**Sheehan, E. M., O'Connor, T. P., Sheehy, P. J. A., Buckley, D. J., FitzGerald, R.,** Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Food Chem.* 1998, 63, 313–317

**Shewfelt, R.** Fish muscle lipolysis- a review. *Journal of Food Biochemistry.* 1981, 5, 79–100.

**Sikorski, E. Kolakoski:** Endogenous enzyme activity and seafood quality: Influence of chilling, freezing, and other environmental factors. In: *Seafood Enzymes*. Eds. N. Haard, B. Simpson, Marcel Dekker, New York, NY (USA). 2000, pp. 451–487.

**Sista, R., Erickson, M., & Shewfelt, R.** (1997). Quality deterioration in frozen foods associated with hydrolytic enzyme activities. In M. Erickson & Y.-C. Hung (Eds.), *Quality in frozen food*. New York, USA: Chapman and Hall. 1997, 101–110.

**Spuch, A. R., Judis, M. A.,** Estudio de la calidad nutricional y susceptibilidad oxidativa de *Cyprinus carpio* cultivados en la región centro chaqueña, in: *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Ed. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. 2004, E-075, 1–4.

**Stéphan G, Guillaume J, Lamour F.** Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: Effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture.* 1995. 130, 251-268.

**Tan, C., Che Man, Y., Jinap, S., & Yusoff, M.** Effects of microwave heating on the quality characteristics and thermal properties of RBD palm olein. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 2002, 3, 157–163.

**Teixeira, M., & Tobinaga, S.** (1998). A diffusion model for describing water transport in round squid mantle during drying with a moisture-dependent effective diffusivity. *Journal of Food Engineering.* 1998, 36, 169–181.

**Vinagre J, Rodríguez A, Angélica Larraín Ma, Aubourg SP.** Chemical composition and quality loss during technological treatment in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Food Research International.* 2011, Vol. 44, 1, 1–13

**Waagbo R., Glette J., Raa-Nilsen E. and Sandnes K.** Dietary vitamin C, immunity and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry.* 1993, 12(1), 61-73.

**Whittle, R. Hardy, G. Hobbs:** Chilled fish and fishery products. In: *Chilled Foods: The State of the Art*. Ed. T. Gormley, Elsevier Applied Science, New York, NY (USA) 1980, 87–116.

**Wu, T., & Mao, L.** Influences of hot air drying and microwave drying on nutritional and odorous properties of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets. *Food Chemistry.* 2008, 110, 647–653.



## 5 CONCLUSIONES

Se muestran las conclusiones específicas de cada capítulo así como las conclusiones generales para cada una de las tres partes en las que se ha dividido el presente trabajo.

### PARTE 1. APLICACIÓN DE HIELO LÍQUIDO INCLUYENDO OZONO.

#### Capítulo 1

La aplicación de hielo líquido con y sin ozono en el sacrificio y refrigeración de trucha arco iris de cultivo demostró una estabilización relativa de la composición de lípidos, de manera que se obtuvo un bajo desarrollo de daños en los lípidos y una marcada retención de la calidad sensorial. Por lo tanto, se pudo observar un bajo nivel de desarrollo de hidrólisis y oxidación de lípidos, que fue seguido por la ausencia de cambios en la composición de lípidos (AGPI, PL y antioxidantes endógenos) y cambios de color instrumental.

En cuanto a la aceptación sensorial, se obtuvieron puntajes de notablemente “buena calidad” y buenos tiempos de vida útil. Según las demandas presentadas sobre la calidad de las especies de peces de cultivo en agua dulce, se concluye que FI, como tal, o incluyendo la presencia de ozono, se puede considerar como estrategia ideal para ser empleado este sistema de enfriamiento como sacrificio y a la vez proporcionar productos de buena calidad.

#### CONCLUSIONES PARTE 1

La presencia de ozono en hielo líquido ha demostrado algunos efectos rentables dando lugar a un tiempo de vida útil más largo por la retención de la calidad de varios parámetros sensoriales. En contraste, se pudieron observar algunos efectos negativos insignificantes en el desarrollo de la oxidación de lípidos secundaria y terciaria. Sin embargo, los valores de la oxidación alcanzados por los individuos mantenidos en condiciones OFI no pueden ser considerados como particularmente altos.

## **PARTE 2. CONSERVACIÓN DE SALMÓN COHO CONGELADO MEDIANTE EL DESARROLLO DE FORMULACIONES DE DIETAS DE CULTIVO ADICIONADAS CON EXTRACTOS ANTIOXIDANTES NATURALES ALTERNATIVOS AL USO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICO**

### **Capítulo 2**

Los resultados presentes han demostrado una mejora de la estabilidad frente a la oxidación de lípidos cuando se emplea una dieta que incluya antioxidantes naturales por sustitución de los sintéticos durante la comercialización de salmón coho congelado. Esta sustitución ha llevado a una retención mayor de compuestos de oxidación de lípidos primarios y secundarios, lo que se ha traducido en una menor formación de compuestos de oxidación lipídica terciaria. Estos resultados fueron acompañados por un valor de PI superiores, así como de puntuaciones inferiores de sabor rancio. En cuanto al desarrollo de hidrólisis de lípidos, no se obtuvo efecto alguno como resultado del empleo de diferentes dietas.

### **Capítulo 3**

La aplicación de dietas enriquecidas con antioxidantes naturales produjo un efecto de retención del valor nutricional y de componentes esenciales durante el periodo de conservación de salmón coho congelado. Se obtuvo un contenido superior en proteínas sarcoplásmicas, tocoferoles ( $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferol) y ácidos C22:6 $\omega$ 3 y monoinsaturados especialmente en las muestras correspondientes a la dieta rica en tocoferoles.

### **CONCLUSIONES PARTE 2**

Por primera vez, de acuerdo con la bibliografía manejada, se llevó a cabo un estudio comparativo sobre la calidad del pescado congelado, teniendo en cuenta el efecto de la alimentación previa de dietas incluyendo antioxidantes sintéticos y naturales.

El estudio realizado ha confirmado el efecto de los componentes antioxidantes naturales adicionados a la dieta de salmón coho en la retención de compuestos de

oxidación primarios y secundarios y la protección de algunos componentes esenciales de la fracción lipídica. Las dietas estudiadas han igualado la efectividad de las dietas con antioxidantes sintéticos. De esta forma, la aplicación de antioxidantes naturales en dietas de cultivo en reemplazo de los antioxidantes sintéticos resulta evidentemente favorable tanto para la industria de la piscicultura así como para el bienestar de los consumidores.

### **PARTE 3. MEJORA DE LA CALIDAD DE SALMÓN ATLÁNTICO MEDIANTE TRATAMIENTO A ALTAS TEMPERATURAS: ENLATADO CON APLICACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES Y OPTIMIZACIÓN DE SECADO CONVECCIONAL.**

#### **Conclusiones Capítulo 4**

En este estudio, se planteó el uso de extracto de algas marinas como camino inexplorado hasta la actualidad para mejorar la conservación de salmón del Atlántico enlatado, un pescado graso.

El uso de extractos de algas marinas como parte del líquido de cobertura del enlatado de salmón contribuyó a la disminución de la oxidación secundaria (pAV), contrariamente a lo observado para la muestra de control. Estos resultados fueron acompañados por una alta retención de AGPI y AX, y puntuaciones más bajas para el desarrollo de olor rancio. En cuanto a los parámetros sensoriales evaluados, después de 170 días de almacenamiento en lata a 40°C, todas las muestras de salmón incluyendo extractos de algas presentaron puntajes aceptables en olor rancio y sabor característico.

#### **Capítulo 5**

La temperatura de secado resultó ser menos perjudicial que el tiempo de exposición sobre aspectos de la calidad, tales como los ácidos palmítico, EPA, DHA, y los tocoferoles de tipo  $\alpha$  y  $\gamma$ . La astaxantina no se deterioró durante el secado y, por tanto, se mantuvo el tono rojo (parámetro  $a^*$ ) de la muestra seca. Las diferencias de color se debieron sólo a la aparición de algunos productos de pardeamiento que se produjeron principalmente a 60 °C. La firmeza de muestras secas también aumentó con la temperatura.

### CONCLUSIONES PARTE 3

Los promisorios resultados obtenidos en este estudio nos llevan a concluir que es necesaria la realización de futuros estudios sobre el uso de algas marinas como efectivos agentes naturales y saludables capaces de asegurar la preservación de pescado y de mariscos. Esto se hace más evidente considerando la amplia variedad de macroalgas aún no estudiadas cuya aplicación en la forma de extractos puedan dar una protección efectiva frente a la alteración por oxidación térmica y la consecuente pérdida de componentes esenciales (vitaminas, AGPI, etc.) de los productos marinos

Por otro lado, los resultados de este trabajo indican que en el proceso de secado de salmón la determinación de la cinética de secado es fundamental para la obtención del rango de temperatura en que se produce un tiempo de secado más corto y favorable para una mejor calidad del pescado seco. Los atributos de calidad notificados para los filetes de salmón Atlántico secos pueden ser utilizados para mejorar las características finales del producto. Por último, la optimización de la calidad de productos marinos durante el proceso de secado requiere más investigación tecnológica a fin de superar las limitaciones relacionadas con la conducta estructural y funcional del alimento y su dependencia de los mecanismos de transferencia de calor y masa.



## RESUMEN

El presente proyecto de tesis comprende el estudio en profundidad de la mejora de la calidad de las principales especies salmónidas comerciales cultivadas tanto en Galicia como en la zona sur de Chile. El objetivo común ha consistido en aplicar diferentes estrategias de conservación a nivel de las distintas etapas de la cadena productiva de salmónidos al objeto de inhibir el desarrollo de la alteración de la fracción grasa (oxidación e hidrólisis). La mejora de la calidad y el incremento de la vida útil se abordaron mediante distintas técnicas de aplicación de compuestos preservantes de origen natural a las especies de salmónidos elegidas para su conservación como productos refrigerados, congelados, enlatados y secados. Para verificar el efecto inhibitor de la alteración de las distintas estrategias ensayadas, se realizaron análisis bioquímicos, físicos y sensoriales de las muestras tratadas en el laboratorio.

